DIE NATURWISSENSCHAFTEN

BEGRÜNDET VON A. BERLINER UND C. THESING

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

ERICH v. HOLST

HERAUSGEGEBEN VON

ERNST LAMLA

BEIRAT:

J. BARTELS · E. BEDERKE · H. BROCKMANN · P. TEN BRUGGENCATE · C. W. CORRENS · H. J. DEUTICKE
R. GRAMMEL · O. HAHN · R. HARDER · M. HARTMANN · W. HEISENBERG · A. KÜHN · M. v. LAUE
H. MARTIUS · R. W. POHL · W. WEIDEL

ORGAN DER MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN
ORGAN DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER NATURFORSCHER UND ÄRZTE

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

47. JAHRGANG **HEFT 2** (ZWEITES JANUARHEFT) **1960**

INHALT

AUFSÄTZE Seite

Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen. Mit einem Exkurs über Ergastoplasma und Golgi-Körper. Von G. C. HIRSCH 25

KURZE ORIGINALMITTEILUNGEN

Paramagnetische Resonanz bei belichtetem Silberbromid. Von D. BÖSNECKER und W. WAIDELICH 35

Absorptionsanalyse von Röntgenstrahlen. Von E. KROKOWSKI 35

Messung des luftelektrischen Feldes in der freien Atmosphäre. Von R. MÜHLEISEN und H. J. FISCHER 36

Eine neue Methode zum Nachweis des langlebigen radioaktiven Aerosols der Atmosphäre. Von H. KLUMB und T. DAHLEM 37

Zur röntgenographischen Früherkennbarkeit des Dauerbruches an Stahlproben. Von R. GLOCKER, E. MACHERAUCH und P. MÜLLER 38

Zur Optik und Struktur des Whewellits. Von W. HOFFMANN . 38

Molecular Weight of Mycobacillin by Diffusion Method. Von S. K. MAJUMDAR 39

Über die Trennung und Identifizierung 2′-3′-zyklischer Nukleotide durch Papierchromatographie. Von J. STOCKX und R. VAN PARIJS 39

Eine neue Darstellungsmethode für Trialkyloxoniumsalze. Von H. TEICHMANN und G. HILGETAG 39

Incorporation of Tritium in Unsaturated Steroids: Pregnenolone-7α-H^3 and Progesterone-7α-H^3 of very high Specific Activity. Von M. GUT und M. USKOKOVIĆ 40

Über die Farbstoffe der schwarzen Holunderbeere. Von L. REICHEL und W. REICHWALD 40

Die therapeutische Breite von verschiedenen β-bromallylsubstituierten Barbitursäure-Derivaten im Tierexperiment. Von G. BAUER 41

Über die Farbstoffe der schwarzen Johannisbeere. Von L. REICHEL und W. REICHWALD 41

Studies on Active Carbon: I. Preparation of Active Carbon from Kodra-Husks using $ZnCl_2$ as an Activator. Von K. C. PATEL, M. D. AVASARE, B. N. MANKAD und R. D. PATEL 41

Auftrennung der „alkalischen Phosphatase" aus Leber in zwei Enzyme mit der Lokalisation im Zellkern sowie in den Mikrosomen bzw. in den Mitochondrien. Charakterisierung der beiden Enzyme in einigen ihrer Haupteigenschaften. Von E. BAMANN, C. GÖSSWEIN und J. RIEHL 42

Artspezifische Unterschiede im Gehalt der Erythrocyten an Oestradiol-Dehydrogenasen. Von H. J. PORTIUS und K. REPKE 43

Über einen Hemmstoff des Gerinnungsfermentes Thrombin aus blutsaugenden Raubwanzen (Reduviiden). Von F. MARKWARDT und E. SCHULZ 43

Effect of Acetylcholine on the Cardiovascular and Respiratory System in Different Experimental Preparations (and the Role of Baro-Receptors). Von S. R. MUKHERJEE, J. MITRA und B. N. KOLEY 43

Die Wirkungen des 2,4-Dinitrophenols auf das Elektroretinogramm. Von W. MÜLLER-LIMMROTH und W. POHLSCHMIDT 44

Summation cancerogener Wirkungen von chemisch verschiedenartigen Cancerogenen. Von W. NAKAHARA und F. FUKUOKA 44

Deoxycytidylic Deaminase in Carcinogenic Rat Liver. Von S. FIALA, A. E. FIALA und W. GLINSMANN 45

The Determining Influence of the Dose and Nature of Orally Administered Carcinogens on Mouse Skin Tumours Promoted with Tween 40. Von E. E. NISKANEN und L. MERENMIES 46

Experimental Colloid Goitre in Some Viviparous Toothcarps Produced by Thiouracil Treatment. Von A. STOLK 46

Herstellung von Chlorella-Farbmutanten mit Hilfe von radioaktiven Isotopen. Von P. SCHWARZE und N. O. FRANDSEN . 47

Reziproke Infektion mit Eucoccidien aus verschiedenen Wirten. Von K. G. GRELL 47

BESPRECHUNGEN

STENZEL u. BROSZE: Leitfaden zur Berechnung von Schallvorgängen. (Ref.: G. KURTZE) 48

G. KARAGOUNIS: Einführung in die Elektronentheorie organischer Verbindungen. (Ref.: W. JOST) 48

Cell, Organisms and Milieu. Hrsg. v. D. RUDNICK. (Ref.: G. C. HIRSCH) 48

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

Begründet 1913 von *A. Berliner* und *C. Thesing*. 1934/35 herausgegeben von *H. Matthée*, 1936—1944 herausgegeben von *F. Süffert*, 1945—1949 herausgegeben von *A. Eucken*.

Beilage: „Mitteilungen der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte".

Bildet die Fortsetzung der „Naturwissenschaftlichen Rundschau", begründet 1886 und bis 1912 (Jahrgang 27) herausgegeben von *J. Bernstein, V. Meyer, B. Schwalbe, W. Sklarek* u. a. Braunschweig, F. Vieweg & Sohn.

Organ der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte und Organ der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften (bis 1948 Organ der Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft).

Die **„Naturwissenschaften"** erscheinen zweimal monatlich. Bestellungen nimmt jede Buchhandlung und jedes Postamt entgegen. Preis vierteljährlich 15.— DM, für das einzelne Heft 3.— DM, zuzüglich Postgebühren. Für Mitglieder der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte und Studierende der Naturwissenschaften ermäßigt sich der Bezugspreis auf vierteljährlich 12.— DM zuzüglich Zustellgebühren. Lieferung läuft weiter, wenn nicht vier Wochen vor Quartalschluß abbestellt wird. Der Bezugspreis ist im voraus zahlbar.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der photomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. ***Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.***

Sonderdrucke: Den Verfassern von Originalbeiträgen und Kurzen Originalmitteilungen stehen 75 Exemplare kostenfrei zur Verfügung.

Anschrift der Redaktion:
(20b) Göttingen, Jennerstr. 21, Tel. 59717

Anzeigen werden von der Anzeigenabteilung des Verlages (Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301) angenommen. Die Preise wolle man unter Angabe der Größe und des Platzes erfragen.

Springer-Verlag
Berlin · Göttingen · Heidelberg

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Redaktionelle Hinweise

I. Allgemeines

1. Bei der Einsendung von Manuskripten an „Die Naturwissenschaften" bittet die Redaktion die Herren Autoren, stets im Auge zu behalten, daß die Zeitschrift in erster Linie den Wünschen und Interessen des weiten Kreises ihrer Leser zu dienen hat und daß daher ihnen gegenüber Sonderwünsche der Herren Autoren in bezug auf Inhalt, Form und Umfang ihrer Veröffentlichung zurücktreten müssen, falls die Redaktion dies für erforderlich hält.

2. Vor allem bittet die Redaktion, von der Einsendung von Aufsätzen Abstand zu nehmen, die nur für einen engbegrenzten Leserkreis verständlich und von Interesse sind und die daher in einer Fachzeitschrift ihren richtigen Platz haben. Ausnahmen bilden knapp gefaßte Schilderungen der Ergebnisse eben fertiggestellter Arbeiten; für diese ist die Rubrik „KOM" („Kurze Originalmitteilungen") vorgesehen. Wegen Platzmangels sind allerdings auch hier gewisse Einschränkungen nötig. In bezug auf den Inhalt: Angenommen werden können nur wirklich wichtige Arbeiten (z. B. keine bloßen Analogiearbeiten). In bezug auf den Umfang: Im Durchschnitt kann für eine einzelne KOM nur der Raum einer Spalte (etwa 1000 Silben) zur Verfügung gestellt werden.

3. Die KOM erscheinen „unter ausschließlicher Verantwortung der Autoren". Eine wissenschaftlich-kritische Stellungnahme der Herausgeber zu ihrem Inhalt erfolgt nicht. Die Redaktion prüft lediglich, ob ein genügendes Allgemein-Interesse vorliegt.

4. „Kurze Originalmitteilungen" aus dem englischen und französischen Sprachgebiet können in der Originalsprache veröffentlicht werden.

II. Spezielle Hinweise

Alle Sendungen und Zuschriften sind zu richten an:

Redaktion der Naturwissenschaften,
(20b) Göttingen, Jennerstr. 21, Tel. 59717.

In sämtlichen Fällen erhalten die Autoren eine Bestätigung über das Eintreffen von Manuskripten sowie über deren Annahme oder Ablehnung. In den Aufsätzen sind seltene und nur einem kleinen Leserkreis verständliche Fachausdrücke nach Möglichkeit zu vermeiden oder in einer Fußnote kurz zu erläutern. Literaturzitate sind fortlaufend zu numerieren; die angeführten Arbeiten werden dann in einem Literaturverzeichnis am Schluß der Arbeit zusammengestellt. Bei Erläuterungen des Textes durch Figuren ist überflüssiger Aufwand zu vermeiden. Figurenvorlagen für Strichätzungen sind so sorgfältig herzustellen, daß nach ihnen ohne weitere Rückfragen Reinzeichnungen angefertigt werden können. Diese werden zur Zeitersparnis den Autoren im allgemeinen nicht vorgelegt, sondern seitens der Redaktion kontrolliert.

Photographische Abbildungen (Autotypien) können gebracht werden, soweit erforderlich. In vielen Fällen läßt sich jedoch das Wesentliche durch eine (leichter reproduzierbare) Zeichnung ebensogut zeigen.

Korrekturen

Die Autoren der Aufsätze, Berichte und Buchbesprechungen erhalten eine Fahnenkorrektur, deren umgehende Erledigung und Rücksendung erbeten wird.

Bei den KOM wird zur Beschleunigung des Erscheinens die Korrektur von Text und Abbildung von der Redaktion besorgt, soweit nicht der Autor bei Einsendung des Manuskriptes ausdrücklich den Wunsch äußert, diese Arbeit selbst vorzunehmen. Bei KOM ohne Figuren soll hierdurch das Erscheinen innerhalb 4 Wochen nach Eingang bei der Redaktion ermöglicht werden.

Besprechungsexemplare

Es wird gebeten, von der unverlangten Zusendung von Besprechungsexemplaren abzusehen und zunächst eine Anfrage an die Redaktion zu richten, die gegebenenfalls dann ein Exemplar anfordern wird. Für die Rückgabe unverlangter Besprechungsexemplare kann keinerlei Gewähr übernommen werden.

Kleines Quellenbuch zur Geschichte der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte

Gedächtnisschrift für die hundertste Tagung der Gesellschaft. Im Auftrage des Vorstandes der Gesellschaft verfaßt von Professor Dr. Max Pfannenstiel, Direktor des Geologisch-Paläontologischen Institutes der Universität Freiburg i. Br. VI, 164 Seiten Gr.-8⁰. 1958.

Englische Broschur DM 12,60

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

47. Jahrgang Heft 2 (Zweites Januarheft) 1960

Die Fließbandarbeit in der exokrinen Pankreaszelle bei der Produktion von Enzymen*)

Mit einem Exkurs über Ergastoplasma und Golgi-Körper

Von Gottwalt Christian Hirsch, Göttingen

Wir können uns manchen biologischen Vorgang durch einen bildlichen Vergleich deutlich machen. So kann man die Produktion der Sekrete in einer sezernierenden Zelle vergleichen mit dem Produktionsablauf in einer Fabrik [*9*], [*14*], [*20*]: in beide strömen Rohstoffe hinein und Fertigfabrikate heraus. Dazwischen liegt die Herstellung eines bestimmten Fabrikates. Diese Herstellung geht wie ein Strom durch die Zelle, der mit einem „*Fließbande*" verglichen werden könnte, weil die Herstellung nicht an einem einzigen Orte der Zelle geschieht, sondern sukzessive an verschiedenen Orten und Strukturen der Zelle, die hintereinandergeschaltet sind [*9*]. Natürlich hinkt der Vergleich mit einem Fließbande, denn in der Zelle gibt es keine Gummibänder und Rollen. Aber es gibt einen Stoffstrom, der von einer Struktur zur anderen das langsam entstehende Fabrikat weiterträgt; es gibt Strukturen, die vergleichsweise die „Arbeiter am Fließbande" darstellen, und es gibt andere Strukturen („*Zuträger*"), welche diejenigen Stoffe liefern, die für die Teilsynthese eines Fabrikates an einem bestimmten Orte des Fließbandes notwendig sind und zum Orte des Fließbandes geliefert werden.

Es ist die Aufgabe einer Vereinigung von Strukturlehre und Biochemie, die zeitliche Reihenfolge der biochemischen Geschehnisse am Fließbande zu beobachten. Mit jeder neuen Technik werden wieder neue Beobachtungen gemacht, die in das „Fließband" eingeordnet werden müssen: mikroskopisch und biochemisch. Das ist oft schwer. Aber ich glaube heute, eine Hypothese entwickeln zu können, wie sie schematisch Fig. 12 zeigt. Diese Vorstellung erweitert meine früheren Darlegungen [*14*].

Nach dem heutigen Stande unseres Wissens kämen für die Orte der Entstehung der Enzyme drei Möglichkeiten in Frage: 1. Das Ergastoplasma in Zusammenarbeit mit den Mitochondrien und dem Kern. — 2. Die Golgi-Körper als Bildungsort der Zymogen-Granula, die je Hunderttausende von Enzymen enthalten. — 3. Ergastoplasma und Golgi-Körper in einem gemeinsamen Fließbande mit den Zuträger-Funktionen des Kernes (Nucleolus) und der Mitochondrien. Wir wollen diese drei Möglichkeiten untersuchen.

1. *Die Dynamik des Ergastoplasmas*

Ich glaube heute dem Ergastoplasma des Pankreas folgende Interpretation geben zu dürfen [*47*]:

Der Begriff Ergastoplasma stammt von Ch. Garnier 1899 und bezeichnete eine bestimmte Zone des Cytoplasmas, welche sich mit basischen Farbstoffen intensiv färbt [*8*]. Erst die Zusammenarbeit von Elektronenmikroskopie und Biochemie hat vor kurzem gefunden, daß dies Ergastoplasma ein *Sammelbegriff* ist für zwei cytogenetisch und funktionell vollkommen verschiedene Teile [*47*]: erstens die *Endoplasmatischen Kanäle* (oder α-Cytomembranen [*40*], endoplasmic reticulum [*31*] genannt) und zweitens die *Ribonucleo-Protein-Granula (RNPr-Granula)*. Beide sind ontogenetisch verschiedenen Ursprungs, beide haben verschiedene Funktionen. Aber beide Teile können sich sekundär miteinander strukturell und funktionell vereinigen: dann bilden beide zusammen das alte *Ergastoplasma*. Beide Teile kommen aber immer auch getrennt vor, bei tierischen und pflanzlichen Zellen [*47*].

A. Die **Endoplasmatischen Kanäle** erstrecken sich, mehr oder weniger parallel laufend, von der Basis bis zum Zellkern und an den Seitenwänden der Zelle (vgl. die Fig. 1 in [*14*]). Im Hungerzustand ist ihre Ausbreitung verhältnismäßig gering. 1 Std nach Futteraufnahme aber oder 1 Std nach Pilocarpinreiz sind die Kanäle bis zum Kern ausgedehnt. 4 Std nach Reizung sind sie wieder zurückgebildet zu einem breiten Streifen an der Zellbasis [14]. Wie kommt dieses Anschwellen und Wieder-Abschwellen der Kanäle zustande? Ist dies ein rhythmisches Wachstum oder hat es mechanische Ursachen?

Zunächst die statische Beschreibung von Sjöstrand 1953 bis 1954 [*40*], [*41*]: Die Kanäle enden blind. Die Kanallumina sind angefüllt mit einer homogen erscheinenden Masse, die etwas heller ist als das Grundplasma zwischen den Kanälen. Ihre Wände haben eine variierende Dicke von 40 bis 70 Å. Die mittlere Breite der Kanallumina in Gefrier-Trocken-Präparaten ist ~530 Å, schwankend zwischen 100 und 700 Å.

Diese auffallend hohen Variationen der Kanallumina werden begreiflich, wenn man die Pankreaszellen vergleicht während des Hungerzustandes und 1 Std nach Futterreiz: Im Hungerzustand (Fig. 1) sind die Wände der Kanäle etwas stärker (~60 bis 70 Å), und die Kanäle sind erfüllt von einer homogenen Masse. 1 Std nach Reizung (Fig. 2) jedoch sind die Kanalwände vielleicht etwas dünner: ~50 Å. Die Kanallumina aber haben einen Durchmesser von 1000 bis 7000 Å; ihre Ausdehnung hat sich also verdoppelt bis verelffacht.

Damit scheint in Verbindung zu stehen, daß die Kanalwände nach Reizung durch Wiederfütterung so dünn werden, daß sie elektronenmikroskopisch kaum mehr erkennbar sind. Um dies zu verstehen, möchte ich annehmen, daß der innere Druck des Kanalinhaltes zunimmt durch Aufnahme oder Erzeugung von mehr flüssigen Stoffen. Mit dieser Druckzunahme könnten

*) Ich widme diese Arbeit meinem Freunde Otto Koehler in Freiburg zum 70. Geburtstage; er hat frühzeitig die Bedeutung cytoplasmatischer Untersuchungen erkannt. — Der Verfasser ist Herrn Dr. G. E. Palade vom Rockefeller-Institut und Herrn Dr. D. Ferreira, Lissabon, für die freundliche Übersendung von elektronenmikroskopischen Photos zu Dank verpflichtet. — Dem *Universitätsbunde Göttingen* danke ich für freundliche Hilfe.

die Kanalwände sich dehnen und dadurch dünner werden, wie in einem aufgeblasenen Gummiballon.

Während des Hungerzustandes sind die Kanäle verhältnismäßig stark aufeinandergepackt: ihr mittlerer Abstand beträgt ~0,1 μ (Fig. 1); 1 Std nach Fütterung aber ~0,2 μ (Fig. 2). Dazu kommt, daß die Lumina sich bedeutend ausgedehnt haben. Beide Ausweitungen: der Lumina und der Kanalabstände, bedingen es wohl, daß das die Endoplasmatischen Kanäle im Restitutionszustande der Zelle einen viel größeren Raum einnehmen als im Hungerzustande. Zweitens möchte ich aus diesen Messungen schließen, daß die Anzahl der Endoplasmatischen Kanäle sich während der Restitutionszeit nicht vermehrt, sondern im Hungerzustand und in der Restitutionszeit etwa gleich ist.

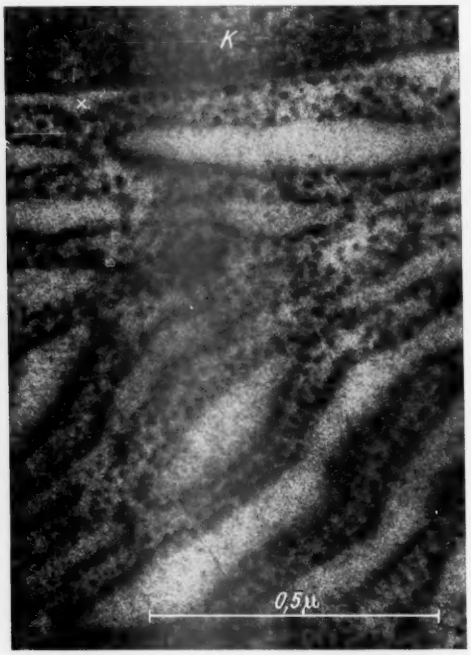


Fig. 1. Pankreas des Meerschweinchens im Hungerzustande. Teil einer exokrinen Sekretzelle. Elektronenmikroskopische Aufnahme. Vergr. 93000. Oben am Rande ein kleines Stückchen des Kerns mit der Kernmembran. Der Rest des Bildes ist ausgefüllt mit dem Ergastoplasma. Dies zeigt: Die *Endoplasmatischen Kanäle*, gefüllt mit einer weniger dichten, gleichmäßigen Flüssigkeit. Sie werden an der Außenseite begleitet von den *RNPr-Granula*, die sich in ziemlich gleichmäßigen Abständen der Kanalwand außen anschließen. Im Raume zwischen den Kanälen liegt das Grundplasma, in welches noch weitere RNPr-Granula eingebettet sind. Jedes Granulum ist sehr dicht, mit etwa 160 Å Durchmesser. Mit freundlicher Erlaubnis von Dr. G. E. PALADE, New York

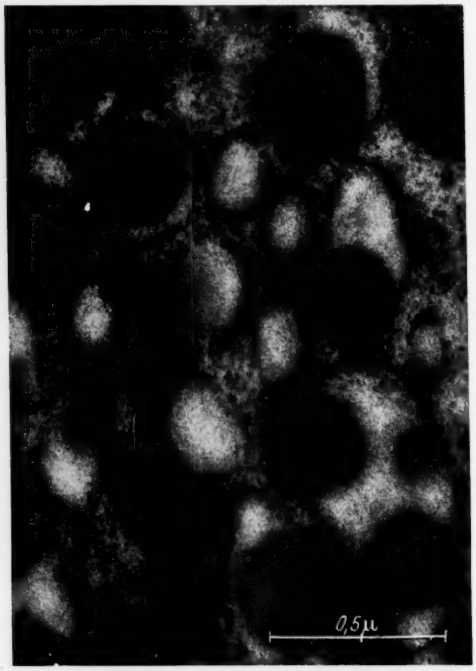


Fig. 2. Pankreas des Meerschweinchens: Hunger 48 Std, dann Wiederfütterung. Getötet 1 Std nach Beginn der Fütterung. Elektronenmikroskopische Aufnahme. Vergr. 56000. Die quergetroffenen Endoplasmatischen Kanäle haben einen bedeutend weiteren Durchmesser (man beachte die Vergrößerung dieser Aufnahme, die nur etwa 3/5 der von Fig. 1 beträgt). Die umgebende Membran ist dünner. Die Lumina der Kanäle sind erfüllt von einer etwas helleren Substanz als im Hungerzustande; diese scheint sich verdichtet zu haben zu den *intrazisternen Granula:* homogenen, dichten Körnern, die manchmal an dem Außenrande etwas dichter zu sein scheinen; ohne Membran. Durchmesser 0,2 bis 0,3 μ. Mit freundlicher Erlaubnis von Dr. G. E. PALADE, New York

Diese Endoplasmatischen Kanäle werden durch Homogenisieren zerbrochen. Sie gelangen durch fraktioniertes Zentrifugieren in die bisher so genannte „Mikrosomen-Fraktion". Es ist seit Jahren bekannt, daß der ausgestrichene Bodensatz dieser Fraktion aus mehreren Teilen besteht, wenigstens aus zwei: 1. aus den sogenannten Zisternen und 2. aus kleinen Granula (Mikrosomen). Diese *Zisternen* nun sind ringförmig zerbrochene Kanalwände, die oval bis rund sind. Es ist doch eine merkwürdige Tatsache, daß ein Kanal mit einer Wandstärke von ~50 Å in Ringe zerbricht. Wir haben vorläufig keine sichere Erklärung dafür; aber ich möchte die Hypothese äußern, daß dieser Zerfall in Ringe mit einer elektronenmikroskopisch nicht sichtbaren Konstruktion der Kanalwand zusammenhängt: wenn man einen länglichen, dünnwandigen Gummischlauch „homogenisiert", dann erhält man kleine Fetzen oder Lappen, aber keine „Zisternen". Wenn man sich aber vorstellt, daß dieser Gummischlauch aus regelmäßigen, ringförmig eingeordneten Systemen von Molekeln bestünde, so wäre es denkbar, daß der Zusammenhalt dieser Molekeln untereinander größer wäre als der Zusammenhalt ihrer Systeme untereinander und daß deswegen die Kanalwände beim „Homogenisieren" in Ringe (Zisternen) zerfallen.

Das Gesagte ist vorläufig nur eine Hypothese von mir, die noch bewiesen werden muß. Sie wird gestützt durch die Untersuchungen von H. H. PFEIFFER [35]: Die Kanäle sind polarisationsoptisch in Profilansicht und auf dem Querschnitt in bezug auf die Dicke negativ doppelbrechend, im Blick von oben isotrop. Der Hauptanteil der negativen Anisotropie ist auf Formdoppelbrechung des Mischkörpers zurückzuführen. PFEIFFER schließt, daß die negative Formdoppelbrechung auf einer leptonischen Schichtentextur beruht, die Eigendoppelbrechung aber auf dem lamellar geschichteten Aufbau.

B. Mit diesen Kanälen assoziieren sich im Laufe der Ontogenese bestimmte, zunächst unabhängige Granula [7], welche dann beim erwachsenen Tiere die Kanalwände regelmäßig begleiten (Fig. 1 und 2). Beide zusammen bilden das *Ergastoplasma*. Diese

Granula finden sich aber auch zahlreich zwischen den Kanälen im Grundplasma. Sie enthalten *Ribonucleo-Proteine* (RNPr) [*39*]. Ich folge BRACHET 1949 [*1a*], wenn ich sie **RNPr-Granula** nenne. Ihre Ribonucleinsäure (RNS) scheint größtenteils aus dem Nucleolus zu stammen [*1*], [*33*], [*47*]. Die RNS spielt bei der Synthese von Proteinen eine strukturelle Rolle, aber keine metabolische [*1*], [*18*]. Die RNPr-Granula enthalten RNS, Proteine und Phospholipoide sowie zahlreiche Enzyme [*47*].

Im Hungerzustand des Tieres (Fig. 1) und 1 Std nach Fütterung (Fig. 2) sind die RNPr-Granula gleich groß und von derselben optischen Dichte. Ihre Anzahl ist aber in der Restitutionszeit bedeutend höher: sie durchsetzen die auf das Doppelte erweiterten Zwischenräume zwischen den Kanälen etwa in derselben Populationsdichte wie im Hungerzustande. Ich möchte daraus die Vermutung ableiten, daß die RNPr-Granula sich während der ersten Stunden nach dem Fütterungsreiz vermehren, im Gegensatz zu den nichtvermehrten Kanälen. Diese deutliche *Vermehrung* der RNPr-Granula ist auch während der Ontogenese beobachtet worden: Die Untersuchungen von FERREIRA [*7*] zeigen, daß während der Ontogenie der Ratte (5, 15, 18, 20 und 40 mm Länge) die RNPr-Granula unabhängig von den Endoplasmatischen Kanälen sich bilden, sich stark vermehren und in bestimmten Anordnungen vorkommen. FERREIRA schließt daraus, daß die RNPr-Granula und die Kanäle als Unterteile des Ergastoplasmas cytogenetisch unabhängig voneinander sind.

Wie diese Vermehrung der RNPr-Granula geschieht, ist bisher dunkel. Eine Durchschnürung (Teilung, etwa in Form einer Semmel) ist in den mehreren Hundert elektronenmikroskopischen Aufnahmen, die ich daraufhin prüfte, nicht zu entdecken. Wohl sehe ich aber an einzelnen Stellen der Fig. 2, daß die RNPr-Granula einen „bläschenförmigen" Charakter haben; auch TASHIRO [*45*] und J. CHAVEAU, Y. MOULÉ, C. ROUILLIER [*2*] fanden 1957 wenigstens zwei verschiedene Arten von RNPr-Granula in der Leber. Vielleicht stehen solche verschiedenen Strukturen mit einer Vermehrung der RNPr-Granula im Zusammenhang? Ich bin nun zu folgender *Hypothese* gekommen, die ich zur Diskussion stelle [*47*]: Das Grundplasma enthält freie, gelöste Ribonucleo-Proteine (die nicht an Granula gebunden sind) [*26*], [*39d*], freie Aminosäuren, Lipoproteide und synthetisch wirksame Enzyme [*23*]. Ich könnte mir vorstellen, daß durch einen besonderen enzymatischen Mechanismus aus diesen Bestandteilen des Grundplasmas neue RNPr-Granula schrittweise gebildet werden. Dies wäre eine regelmäßige *Neubildung unter kontrollierenden Faktoren*, vielleicht des Zellkernes?

Die „Zisternen" als zerbrochene Endoplasmatische Kanalwände und die RNPr-Granula (zusammen mit anderen Teilen der Zellen gleichen spezifischen Gewichtes) wurden früher als sogenannte „Mikrosomen-Fraktion" in einen Topf geworfen. Bei den vielen biochemischen Analysen solcher Fraktion war also nicht zu unterscheiden, welcher chemische Stoff welchem Teile einer solchen „Mikrosomen-Fraktion" zuzuschreiben ist. Neuerdings [*48*] kann man die RNPr-Granula von den „Zisternen" aber durch 2% Na-Deoxycholat bei p_H 7,5 bis 7,7 trennen. Dieses löst den größten Teil der „Zisternen", d.h. der Endoplasmatischen Kanalwände. Das EM zeigt dann eine ungefähre „Reinkultur" der RNPr-Granula, so daß biochemische Bestimmungen nun mit größerer Wahrscheinlichkeit auf die Granula bezogen werden können.

Außerdem ist es SIEKEVITZ und PALADE 1959 [*39d*] gelungen, chemisch und mechanisch durch weiteres Fraktionieren bei 105000 g zu verschiedenen Zeiten die Biochemie der RNPr-Granula näher aufzuklären und erhebliche Unterschiede in 5 Fraktionen dieser Granula zu beobachten. Die Ergebnisse wurden bei hungernden Meerschweinchen erhalten: 1. durch Injektion von Adenin-8-C^{14} zur Messung des Ribonukleinsäure-Anteils der Granula (Fig. 3); 2. durch Injektion von Leucin-1-C^{14} zur Messung des Protein-Anteils; 3. durch Bestimmung des Verhältnisses RNS/Protein. Die Fraktionen wurden folgendermaßen erhalten und lieferten folgende chemischen Ergebnisse:

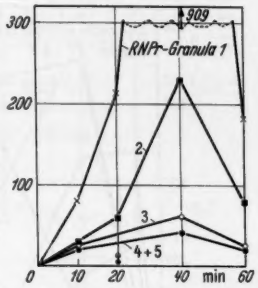


Fig. 3. Inkorporation von Adenin-8-C^{14} in 5 Fraktionen der Ribonucleinsäure (RNS) der Ribonucleo-Protein-Granula (RNPr-Granula) des Pankreas. Abszisse: Minuten nach der Injektion von Adenin-8-C^{14}. Ordinate: Radioaktivität = Teilchen/min/mg RNS. Die Fraktionen 1 bis 5 sind: *1* Endgültiges Überstehendes mit dem freien „gelösten" Ribonucleo-Protein. *2* Granula nach 16 Std Zentrifugieren. *3* Nach 3 Std Zentrifugieren. *4* Die in Na-Deoxycholat unlöslichen „attached particles". *5* Die löslichen Granula mit Resten der Endoplasmatischen Kanäle. RNPr-Granula 1 bis 3 liegen frei im Cytoplasma, 4 und 5 begleiten die Kanäle. Es ergibt sich bei 40 min die Reihenfolge: 1—2—3—4+5. Nach SIEKEVITZ und PALADE 1959 [*39d*]

Ich ordne die RNPr-Granula im dynamischen Sinne in der Reihenfolge ihrer synthetischen Tätigkeit und setze in Klammern die Fraktionsbezeichnungen von SIEKEVITZ und PALADE [*39d*]:

Freies Ribonucleo-Protein im Grundplasma 1. (FS): Letztes Überstehendes nach 20 Std Zentrifugieren. 10% RNS des Zellinhaltes. RNS/Protein-Verhältnis 0,01. Fig. 3 zeigt 40 min nach Injektion von Adenin-8-C^{14}: 909. Nur sehr langsame Inkorporation von Leucin-1-C^{14}. Also sind diese freien RNS-Proteine des Grundplasmas sehr aktiv im RNS-Turnover, aber sehr langsam in der Vorprotein-Synthese.

RNPr-Granula 2 (PM 2): Zentrifugieren 16 Std. RNS/Protein-Verhältnis 0,12. Fig. 3 zeigt 40 min nach Injektion von Adenin-8-C^{14}: 230. RNS/Protein-Verhältnis 0,12. Langsame Inkorporation von Leucin-1-C^{14}. Also stark aktiv im RNS-Turnover, langsam in der Vorprotein-Synthese.

RNPr-Granula 3 (PM 1): Zentrifugieren 3 Std. RNS/Protein-Verhältnis 0,32. Fig. 3 zeigt 40 min nach Injektion von Adenin-8-C^{14}: 60. Etwas schnellere Inkorporation von Leucin-1-C^{14}. Also Abfall des RNS-Turnover, Zunahme der Vorproteine.

RNPr-Granula 4: In Deoxycholat unlösliche Granula, welche die Kanäle begleiten, und

5. Reste der zerrissenen Kanäle, in Deoxycholat löslich. 4+5 werden in Fig. 3 zusammengefaßt. Beide zusammen zeigen ein RNS/Protein-Verhältnis 0,54. Fig. 3 zeigt 40 min nach Injektion von Adenin-8-C^{14}: 40. Sehr schnelle Inkorporation von Leucin-1-C^{14} (Fig. 4): schon nach 3 min. Also relativ hoher Gehalt an Protein (wahrscheinlich in Vorstufen), aber sehr langsames RNS-Turnover (Fig. 3).

Die Daten erlauben folgende Vorstellung: Elektronenmikroskopisch gleiche RNPr-Granula sind biochemisch recht verschieden. Die Speicherung von RNS und ihre Tätigkeit bei der Synthese von (Vor-) Proteinen beginnt in den freien Ribonucleo-Proteinen des Grundplasmas. In der Reihe 1 bis 3 sinkt der Gehalt an RNS; aber der Gehalt an (Vor-) Proteinen steigt. Die begleitenden RNPr-Granula 4 und die Reste der Kanalwände besitzen bereits einen relativ hohen Gehalt an (Vor-) Proteinen und einen relativ

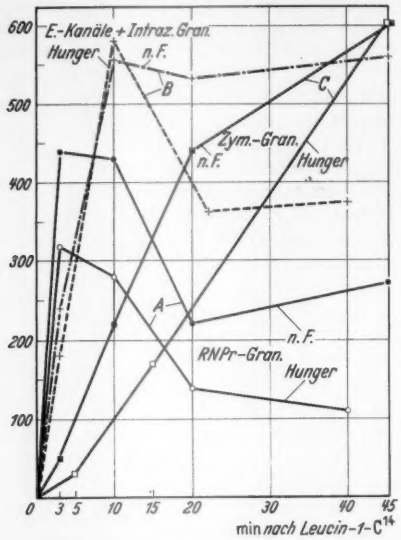


Fig. 4. Die Inkorporation von Leucin-1-C^{14} in *Proteine* bei drei Fraktionen des Meerschweinchen-Pankreas innerhalb der ersten 45 min nach der Injektion. Ordinate: Radioaktivität = Teilchen/min/mg Proteine. Abszisse: die Zeit in min. — Fraktionen nach Hunger und nach Fütterung (n. F.). *A* RNPr-Granula (~150 Å) *B* Endoplasmatische Kanäle (Zisternen) plus intrazisterne Granula. *C* Zymogen-Granula. — Vergleiche die Unterschiede zwischen den Werten bei Hungertieren und 1 Std nach Wiederfütterung und die Reihenfolge der Maxima: A—B—C. Entworfen nach den Mengenangaben von P. SIEKEVITZ und G. E. PALADE 1958 [*39c*]

geringen Gehalt an RNS. Es schwindet also die RNS, während die (Vor-) Proteine steigen.

So ist eine gewisse dynamische Vorstellung in das bisherige „Gemisch von Mikrosomen" gekommen, die uns ein vorläufiges Bild der Entstehung von Vorproteinen im Grundplasma und in den RNPr-Granula gibt. Dadurch ist aber auch eine begriffliche Trennung möglich: Man sollte den Term „Mikrosomen" nun fallenlassen und deutlicher sprechen von RNPr-Granula verschiedener Fraktionen und von Zisternen als ringförmigen Teilen der Endoplasmatischen Kanäle. Da der Durchmesser der RNPr-Granula konstant ~150 Å beträgt, so sind sie gut zu unterscheiden von den Bruchstücken der Kanäle, die sehr verschiedene Weiten haben.

Worauf beziehen sich nun die biochemischen Angaben der älteren Literatur über „Mikrosomen" [*12*], [*23*]? Vor allem auf die RNPr-Granula, denn die zerbrochenen Kanalwände sind geringer in Anzahl. Doch treten 1 bis 3 Std nach Fütterung noch andere Granula im Lumen der Endoplasmatischen Kanäle auf, welche früher teilweise auch zum Sammelbegriff „Mikrosomen" gerechnet wurden.

C. Die **Intrazisternen Granula.** Fig. 2 zeigt, daß während der Restitutionsperiode in den erweiterten Kanallumina die homogene Inhaltsflüssigkeit etwas heller ist als im Hungerzustand; aber diese Erscheinung könnte vielleicht auch auf andere Faktoren zurückgeführt werden. Der wichtigste Vorgang im Endoplasmatischen Kanallumen ist dieser: Es bilden sich innerhalb der ersten Stunde nach Fütterung (Fig. 2) im Lumen der Kanäle relativ große Granula, welche SIEKEVITZ und PALADE intrazisterne Granula nennen. Sie sind nur in den ersten 3 Std nach Wiederfütterung eines Hungertieres zu erkennen; dann aber verschwinden sie. Dies ist eine wichtige Beobachtung, denn durch dieses Auftreten und Verschwinden werden die intrazisternen Granula in den Arbeitszyklus des Pankreas einbezogen.

Es liegen also nach Reizung in etwa 50% der Endoplasmatischen Kanäle intrazisterne Granula (Fig. 2), welche einen Durchmesser von 0,2 bis 0,3 μ haben. Sie sind elektronenmikroskopisch ziemlich gleichmäßig homogen gebaut und besitzen keine eigene Außenmembran. Sie unterscheiden sich von den Zymogen-Granula 1. durch den Ort ihrer Entstehung: die intrazisternen Granula entstehen in den Endoplasmatischen Kanälen, die Zymogen-Granula aber in den Vakuolen der Golgi-Körper [*12*] bis [*16*], [*42*]. 2. Die intrazisternen Granula haben einen Durchmesser von höchstens 0,3 μ, die Zymogen-Granula aber von 0,5 bis 1,5 μ. 3. Die intrazisternen Granula haben keine eigene Membran, die Zymogen-Granula aber wohl (Fig. 10) [*15*], [*39*]. Die intrazisternen Granula und die Zymogen-Granula können also nicht identisch sein. Wohl aber kann ein physiologischer Zusammenhang in Form eines Fließbandes zwischen ihnen bestehen, worüber auf S. 33 gesprochen wird.

D. **Physiologie des Ergastoplasmas.** Ergastoplasma ist also die sekundäre Vereinigung von Endoplasmatischen Kanälen mit RNPr-Granula [*47*]. Wesentlich ist nach dem Gesagten offenbar der Aufbau von Proteinen.

Im letzten Jahre wurde sehr viel am Problem der Protein-Synthese gearbeitet; die letzte Arbeit von SIEKEVITZ und PALADE [*39d*] gibt die umfangreiche Literatur. Wir beschränken uns hier auf das Pankreas.

Ein erstes Argument für das Fließband ist die Reihenfolge der Inkorporation der radioaktiven Aminosäure Leucin-1-C^{14} in die Proteine von drei verschiedenen Teilen des Homogenates, welche durch mechanische und chemische Weise (S. 27) getrennt wurden [*39*]. Die Proteinkurven der Fig. 4 lassen nämlich drei aufeinanderfolgende Kurven-Maxima erkennen: Schon 3 min nach der Leucin-Injektion erscheint das erste Maximum A in den RNPr-Granula; nach Fütterung ist dieses Maximum erhöht. Dann folgt nach 10 min das Maximum B der Endoplasmatischen Kanäle + intrazisternen Granula, welches nach Fütterung (n. F.) nicht erhöht ist. Schließlich folgt das dritte Maximum C in den Zymogen-Granula bei 45 min, deren Anstieg durch Fütterung anfänglich beschleunigt wird.

Ein zweites Argument ist der Nachweis eines stufenförmig auftretenden aminosäure-aktivierenden Enzyms in den Fraktionen 1 bis 3 (S. 27) [*39d*]. Es wurde die Aktivierung von Tyrosin, Tryptophan und eines Casein-Hydrolysates untersucht. Dieses Enzym findet sich in den Fraktionen 1 bis 3 in regelmäßig absteigenden Prozentsätzen, z. B. 44–22–18 oder 68–11–11

oder 67–16–8. Die Reihenfolge bestätigt also die in Fig. 3 erhaltene Reihenfolge der Maxima. Dabei ist besonders zu beachten, daß die Fraktion 1 frei von RNPr-Granula ist, daß also die 2- bis 5fache Menge des Enzyms sich frei im Cytoplasma befindet.

Der Haupteinwand gegen die wiedergegebenen Versuche ist dieser: Die Versuche sind alle an Homogenaten und deren Fraktionen gemacht (in vitro); gelten die Ergebnisse auch für die lebende Pankreaszelle (in vivo)? Diese Frage ist noch nicht gelöst; es ergeben sich sogar einige Diskrepanzen zwischen in vivo (lebende Gewebeschnitte) und in vitro. Aber wir wollen es mal wagen, den bisher als wahrscheinlich gewonnenen Eindruck eines Fließbandes der *Protein-Synthese* vorläufig also *zusammenzufassen* (Fig. 12):

1. Die vom Blut her einströmenden Aminosäuren werden nach der Ingestion [*14*] im granulafreien Grundplasma aktiviert und zusammen mit der RNS in die RNPr-Granula inkorporiert in der auf S. 27 angegebenen Reihenfolge 2 bis 4. Diese Granula sind der Syntheseort für Vorproteine; wie weit dabei die Synthese geht, ist zur Zeit noch unbekannt. Diese Proteine werden durch die Wand der Endoplasmatischen Kanäle geschleust (s. unten) und innerhalb der Kanäle zu intrazisternen Granula aufgebaut. Im Laufe dieses Weges, strömend von Ort zu Ort (in Form eines Fließbandes), vollzieht sich offenbar die Synthese der Proteine in einem stufenweisen Aufbau.

2. Außerhalb des Fließbandes — vergleichsweise als „*Zuträger* am Fließbande" — sind folgende Strukturen an der Synthese mitbeteiligt: a) Die für die Synthese notwendige Ribonucleinsäure (RNS) liefert wohl vor allem der *Nucleolus* [*1b*], [*8*], [*32*], [*38*]: RNS tritt aus dem Kerne durch die 300 bis 400 Å großen Poren [*31*] und gelangt in das Cytoplasma. Außerdem wird RNS vielleicht auch im Plasma gebildet [*38*]. — b) Die energiereichen Phosphate stammen wahrscheinlich aus dem „*Reservepool*" des Zellsaftes; sie wurden aber auch in der sogenannten „Mikrosomen-Fraktion" in besonderen Mengen gefunden [*23*]. — c) ATP aber scheint vor allem von den *Mitochondrien* geliefert zu werden; diese spenden ebenfalls die zur Synthese notwendige Energie [*14*], [*25*]. So treffen also wenigstens drei fremde Faktoren von außerhalb des Fließbandes als „Zuträger" im Cytoplasma und in den RNPr-Granula zusammen, um bei der Synthese der Proteine zu helfen. Aber ich bin überzeugt, daß es viel mehr sind.

E. **Durchtritt der Vorproteine durch die Wand der Endoplasmatischen Kanäle.** Diese Auffassung einer Fließbandarbeit läßt die spezielle Frage entstehen: Wie ist es möglich, daß die Vorproteine der RNPr-Granula durch die lipoidlösliche Phase der Kanalwände geschleust werden? Und wie können sie wieder in die wäßrige Phase der Lumina der Endoplasmatischen Kanäle gelangen? Hier können uns die Untersuchungen von L. E. und M. R. HOKIN vielleicht einen Schritt weiterbringen [*18*]. Sie untersuchten in bisher 18 Arbeiten die Beteiligung der Phospholipoide bei der Arbeit des Pankreas, der Rindenzellen des Gehirns, der Hypophyse und Thyreoidea. Daß ich diese Frage hier bei dem Ergastoplasma aufwerfe, hat seinen Grund in folgendem Befunde der HOKINS [*18*]: Wenn die Autoren die Mikrosomen und die Endoplasmatischen Kanäle im Homogenat des Pankreas durch Deoxycholat trennten, so fanden sie, daß die Inkorporation von P^{32} in Phosphatide verschiedener Fraktionen am stärksten ist in den deoxycholat-löslichen Zentrifugatteilen, d. h. also in den Wänden der Endoplasmatischen Kanäle. Aber die Autoren lokalisieren die betreffenden Phosphatide dennoch in die begrenzende, apikale Membran der Pankreaszelle und meinen, daß die Phosphatide dort bei der Extrusion der Zymogen-Granula eine Rolle spielen könnten. Für diese Lokalisation besteht nach meiner Meinung eigentlich kein Grund. Leider haben die Autoren keine elektronenmikroskopische Kontrolle ihrer Fraktionen gemacht; aber da sie mit der Technik von PALADE [*32*]

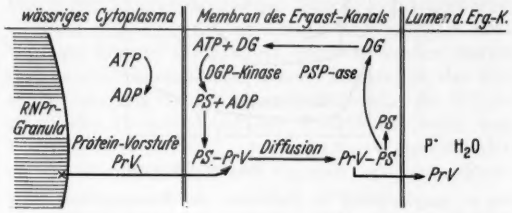


Fig. 5. Schema des aktiven Transportes eines Protein-Vorläufers von den RNPr-Granula durch die Wand des Endoplasmatischen Kanales zum Lumen dieses Kanales. Erklärung im Text. Abkürzungen: *ADP* = Adenosindiphosphat. *ATP* = Adenosintriphosphat. *DG* = α,β-Diglycerid. *DGP-Kinase* = Diglycerid-Phosphokinase. *P* = anorganischer Phosphor. *PrV* = Protein-Vorläufer. *PS* = Phosphatidsäure. *PSP* = Phosphatidsäure-Phosphatase. *RNP-Gr.* = Ribonucleo-Protein-Granulum. — Entworfen in Anlehnung an die Vorstellungen von L. E. HOKIN und M. R. HOKIN 1959 [*18*], aber übertragen auf die Wand des Endoplasmatischen Kanals

arbeiteten, so glaube ich, daß die betreffenden Phosphatide in den Wänden der Endoplasmatischen Kanäle sich befanden.

Wenn ich also die Rolle der Phosphatide in die Wand der Kanäle verlege, so komme ich zu folgender Vorstellung eines Teiles des Fließbandes im Ergastoplasma (Fig. 5):

1. Reaktion (links): ATP + α,β-Diglycerid (DG) $\xrightarrow{\text{Diglycerid-Phosphokinase (DGP-Kinase)}}$ Phosphatidsäure (PS) + ADP.

2. Reaktion: Die Phosphatidsäure (PS) als Träger verbindet sich mit dem Protein-Vorläufer (PrV), vielleicht in einer ionischen Verbindung (PS-PrV). Dieser Körper diffundiert als lipoidlöslich innerhalb der Membran an die rechte Seite.

3. Reaktion (rechts): Die Verbindung zwischen PrV und PS wird gelöst. Beide Körper trennen sich: PrV tritt in das Lumen des Kanales ein; PS bleibt innerhalb der Membran. Die Trägerfunktion der PS ist erfüllt.

4. Reaktion: Phosphatidsäure (PS) + H_2O $\xrightarrow{\text{Phosphatidsäure-Phosphatase (PSPase)}}$ α,β-Diglycerid (DG). Damit steht das DG wieder für die erste Reaktion zur Verfügung.

Die Reaktionen sind an die intakte Membran gebunden. Gefrieren, hypotonisches Milieu und zu niedrige Deoxycholat-Lösungen senken die stimulierende Wirkung des Azethylcholins [*18*].

Auf diese Weise könnte wieder ein Teil der Fließbandarbeit am Ergastoplasma erklärt werden: stufenförmiger Aufbau in den RNPr-Granula → Durchdringung der Kanalwand → Aufbau zu intrazisternen Granula.

2. *Der Entstehungsort der Verdauungsenzyme*

Ist der Entstehungsort der Enzyme gleich dem der Proteine? Die bisherigen Ergebnisse lassen den

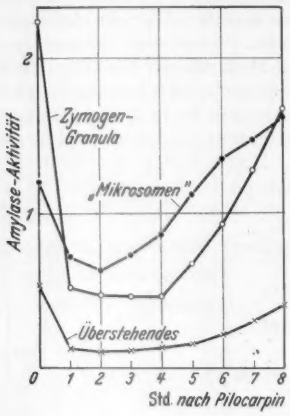


Fig. 6. Amylasegehalt in Fraktionen des Rattenpankreas. Bei 0 Std Hungerwerte. Dann 1 bis 8 Std nach einem Pilocarpinreiz. Die „Mikrosomen"-Fraktion wurde mikroskopisch nicht kontrolliert; sie enthält vermutlich vor allem RNPr-Granula und Reste der Endoplasmatischen Kanäle. Die „Zymogen-Granula"-Werte wurden ermittelt durch Subtraktion der beiden anderen Werte von den Werten des Homogenates. Das Überstehende enthält vielleicht auch die Golgi-Körper? — Berechnet nach den Angaben von LAIRD und BURTON 1958 [22]

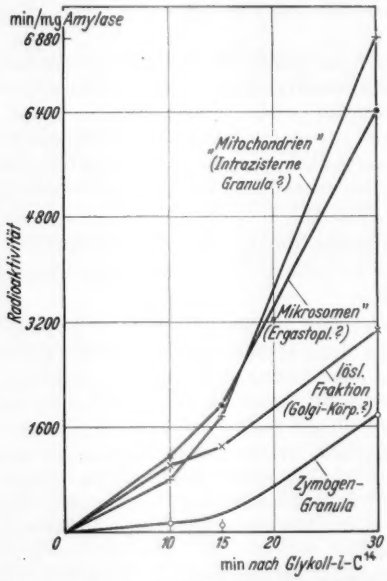


Fig. 7. Radioaktive *Amylase* in Zellfraktionen des Tauben-Pankreas, homogenisiert in Rohrzucker. Nach der Inkorporation von Glykokoll-1-C^{14} (auf der Abszisse versehentlich falsch geschrieben) Trocknen mit Azeton und dann Isolierung der reinen Amylase aus jeder Fraktion. Die Angaben bei 10 und 15 min beruhen nur auf einem einzigen Versuch; die Werte bei 30 min sind das Mittel aus 4 Versuchen mit großer Streuung. Entworfen nach den Zahlenangaben von M. T. SZABO und T. GARZO 1957 [44]

Schluß zu, daß zuerst Vorproteine gebildet werden und daß diese später zu Enzymen synthetisiert werden [43]. Wo geschieht diese spätere Synthese?

Es gibt drei Möglichkeiten für den Entstehungsort: das Ergastoplasma, die Golgi-Körper oder beide zusammen in einer verbundenen Fließbandarbeit, wobei Ergastoplasma und Golgi-Körper verschiedene Funktionen haben.

A. Das Fließband im Ergastoplasma. Was spricht für eine Entstehung der Enzyme im Ergastoplasma?

1. H. LANGER [24] fand 1957 einen gewissen, wenn auch ziemlich geringen Amylase-Gehalt in der sogenannten „Mikrosomen-Fraktion" des Ergastoplasmas (S. 28). Den Hauptteil fand er in den Zymogen-Granula. Aber es wurden leider nur zwei Stufen untersucht.

2. LAIRD und BARTON gingen 1958 [22] schon einen Schritt weiter: sie untersuchten (Fig. 6) im Hunger und von 1 bis 8 Std nach Reizung mit Pilocarpin den Amylase-Gehalt in drei Fraktionen, welche in der Legende der Fig. 6 kritisch genannt werden. Im Hunger enthalten die Zymogen-Granula fast doppelt so viel Amylase wie das Ergastoplasma. Leider wurden innerhalb der ersten Stunde nach Pilocarpin keine Amylasemessungen vorgenommen; gerade in dieser Zeit bilden sich viele Proteine [14] (Fig. 4). 1 Std nach der Reizung ist der Amylase-Verlust bei den „Mikrosomen" des Ergastoplasmas am geringsten (was auch LANGER fand), weil innerhalb der ersten Stunde sich bereits neue Enzyme bilden. Groß ist natürlich der Verlust bei den Zymogen-Granula durch die Extrusion. Die Restitution der Amylase in ~6 Std vollzieht sich im Ergastoplasma („Mikrosomen") etwa in dem gleichen Tempo wie in den Zymogen-Granula, ist aber im Ergastoplasma bis zu 7 Std etwas höher als in den Zymogen-Granula, d. h. also zeitlich etwas voraus. Das „Überstehende" könnte vielleicht Golgi-Körper enthalten (?).

3. Die Untersuchungen von SZABÓ und GARZÓ 1957 [44] (Fig. 7) haben den Vorteil, daß sie den reinen Amylase-Gehalt innerhalb der ersten 30 min nach der Inkorporation von Glykokoll-1-C^{14} in Zellfraktionen prüften und uns dadurch zeigten, wie schnell neue Enzyme aufgebaut werden. Aber sie haben zwei Nachteile: erstens, daß die Ergebnisse bei 10 und 15 min nur durch einen einzigen Versuch gewonnen wurden, bei 30 min jedoch als Mittel aus 4 Versuchen; zweitens, daß die Fraktionen nicht elektronenmikroskopisch geprüft wurden, so daß die Ergebnisse „blind" bleiben. Ich vermute, daß die Amylase der „Mitochondrien-Fraktion" auf intrazisterne Granula zurückgeführt werden kann. Was die „lösliche Fraktion" bedeutet, bleibt unklar; vielleicht enthält sie unter anderem die Golgi-Körper(?) [21A]. — Doch gibt ein Vergleich der Kurven der Fig. 7 (unter der Voraussetzung, daß meine Interpretation der Lokalisierung etwa zutreffen möge!) einen Eindruck des Ortes und der Zeit: Die Kurven des Ergastoplasmas(?) und der Intrazisternen-Granula(?) laufen etwa parallel und enthalten nach 30 min die größte Menge Amylase. Um etwa ein Drittel langsamer ist die Inkorporation in den Golgi-Körpern(?) und um ein Viertel langsamer in den Zymogen-Granula. Daraus könnte sich eine gewisse Reihenfolge der Inkorporation einer radioaktiven Aminosäure in ein neu entstehendes Enzym (Amylase) ergeben: Ergastoplasma → Golgi-Körper → Zymogen-Granula.

4. Die beiden HOKINS [18] haben 1951 bis 1959 die Amylase-Synthese am Pankreas geprüft, meist an suspendierten Feinschnitten (in vitro), aber einmal an den Fraktionen eines Homogenates, leider ohne elektronenmikroskopische Kontrolle jeder Fraktion, jedoch mit so krassen Unterschieden der Kern-, Zymogen-Granula-, Mitochondrien- und Mikrosomen-Fraktion, daß ein Schluß erlaubt ist. Den Tauben wurde 1 Std vor der Tötung 0,1 mg Carbamylcholin injiziert; diese Zeit ist zu lang (vgl. Fig. 7). In den Zellen und in der umgebenden Flüssigkeit stieg der Amylase-Gehalt etwas; aber wenn hydrolysiertes Casein oder ein Gemisch von 20 Aminosäuren hinzugefügt wurde, stieg die Neubildung von Amylase auf das Dreifache. Nach HOKINS Meinung sind 10 Aminosäuren notwendig: in abfallender Reihenfolge Valin, Tryptophan, Arginin, Threonin, Tyrosin, Lysin, Leucin, Histidin, Phenylalanin, Isoleucin, Methionin, was etwa übereinstimmt mit den Befunden von CALDWELL u. Mitarb. [3] und YOUNATHAN und FRIEDEN [46] über den Amylase-Aufbau im Schweinepankreas. Die Amylase-Bildung geschah nicht unter anaeroben Verhältnissen, bei Anwesenheit von Dinitrophenol, Blausäure oder Jodazetat; sie scheint also eine echte Synthese zu sein. Wenn die HOKINS [18] später noch cholinhaltige Stoffe oder Pancreozymin hinzufügten, so hatten diese in den ersten Stunden keinen steigernden Einfluß auf die Amylase-Synthese, wohl aber natürlich nach mehreren Stunden, weil die neugebildeten Enzyme extruiert wurden. Beachtenswert ist, daß eine Stunde und später nach der oben genannten Reizung mit Carbamylcholin keine Steigerung des Gehaltes an RNS zu bemerken war, auch kein erhöhter Einbau von P^{32}. Was aber vor dem Ende der ersten Stunde geschah, wurde leider nicht untersucht; in dieser Zeit läuft

jedoch gerade die Synthese von Protein-Vorstoffen in den RNPr-Granula (Fig. 4 und 7).

5. 1957 hat die Gruppe um STRAUB [*43*] die Inkorporation von Glykokoll-1-C^{14} untersucht: Das Taubenpankreas wurde ohne Reizung in willkürlichen Stadien geprüft durch Homogenisieren, Hinzufügen von radioaktivem Glykokoll und von Threonin und Arginin. Fig. 8 zeigt erstens, daß die Amylase des Gewebes (gleichgültig an welchem Orte) bei 20 min eine stärkere Inkubation von Glykokoll-1-C^{14} hat als die Nicht-Amylase-Proteine; zweitens, daß die Inkorporation in Amylase anfänglich bis 10 min eine Verzögerung erfährt; drittens, daß die Kurve der Proteine linear verläuft, während die Kurve der Amylase sich einer Sinuskurve nähert. Beide Kurven sind also nicht identisch. Die Amylase-Inkorporation zögert anfänglich und zeigt damit deutlich, daß eine Enzymentstehung in wenigstens zwei Stufen erfolgt: eine Neusynthese von Vorproteinen und darauf eine Synthese von aktiver Amylase aus diesen Vorproteinen. Der Ort dieser Inkorporation und der zwei Stufen der Amylase-Synthese scheint mir zu liegen in den RNPr-Granula und in den intrazisternen Granula (Fig. 7).

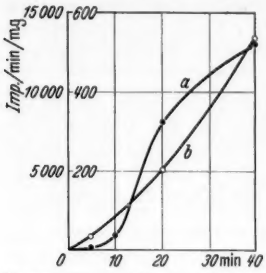


Fig. 8. Inkorporation von Glykokoll-1-C^{14} in die Amylase (*a*) und in die Nicht-Amylase-Proteine (*b*) des zellfreien Homogenates des Pankreas der Taube. Abszisse: Inkubationszeit in min. Ordinate: links Amylase-Radioaktivität, rechts Nicht-Amylase-Protein-Radioaktivität. Aus F. B. STRAUB 1958 [*43*]

6. SIEKEVITZ und PALADE prüften 1958 zuerst das Hungertier [*31b*], [*39b*] und dann 1 Std nach Wiederfütterung; diese wenigen Stufen genügen nicht, denn gerade in der ersten halben Stunde bilden sich bedeutende neue Enzymmengen [*14*]. Aber dafür wurden die Fraktionen chemisch untersucht: erstens auf Ribonuclease und auf Peptidasen (Chymotrypsinogen und Trypsinogen, aktiviert durch Trypsin); zweitens durch Trennung der RNPr-Granula von den intrazisternen Granula (Fig. 2); drittens durch die elektronenmikroskopische Kontrolle in situ und in den Fraktionen. Während des Hungerns (Fig. 1) waren die Aktivitäten der genannten Enzyme in den Zymogen-Granula 5- bis 10mal höher als in den sogenannten „Mikrosomen" (d.h. wohl im Ergastoplasma = zerbrochene Kanäle + RNPr-Granula). Innerhalb der 1. bis 3. Stunde nach dem Reiz der Fütterung treten die intrazisternen Granula auf (Fig. 2). Falls wirklich der Bodensatz des Zentrifugates 30 min ($105\,000 \times g$) vor allem diese neuen Granula enthielt (und nach dem mikroskopischen Bild kann daran nicht gezweifelt werden), so ergeben die Tabellen, daß diese intrazisterne Granula 2mal mehr Peptidasen und 3- bis 4mal mehr Ribonuclease enthielt als die wenigen, nach dem Reize ja verschwindenden Zymogen-Granula. Es gelang den Autoren auch, die RNPr-Granula des Ergastoplasmas durch 120 min Zentrifugieren ($105\,000 \times g$) ziemlich rein zu isolieren: dann zeigten diese Granula doppelt so viel Peptidase und 5mal so viel Ribonuclease wie die Zymogen-Granula. In diesem Falle ergibt das mikroskopische Bild 16 der Untersuchungen [*39b*] überwiegend RNPr-Granula, aber auch noch Reste von Kanalwänden. Im Überstehenden zeigte Bild 17 von [*39b*] vorwiegend RNPr-Granula, aber auch Reste, die vielleicht auf Golgi-Lamellen deuten; biochemisch ergab diese Fraktion etwa gleiche Aktivität wie die der Zymogen-Granula.

Mit diesen 6 Ergebnissen wurden starke Argumente geschaffen für die *zeitliche Reihenfolge der Entstehung von Enzymen im Gebiete des Ergastoplasmas.* Es scheint dieselbe Reihenfolge zu sein wie beim Aufbau von Proteinen (S. 29): Aminosäuren → Vorproteine in den RNPr-Granula → Wanderung durch die Wand der Endoplasmatischen Kanäle → intrazisterne Granula (Fig. 12). Ein wirklicher Beweis dieser Reihenfolge könnte in Zukunft gegeben werden durch genaue elektronenmikroskopische Kontrollen der Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen; durch biochemische Untersuchung der Fraktionen nicht nur 1 Std nach Fütterung, sondern gerade innerhalb der ersten Stunde nach einem einzigen stärkeren Reiz, z.B. Carbamylcholin plus Sekretin [*21*].

B. Das Fließband in den Golgi-Körpern. Eine weitere Reihe von Argumenten spricht für eine letzte Kondensierung der Verdauungs-Enzyme als Zymogen-Granula in den Vakuolen der Golgi-Körper.

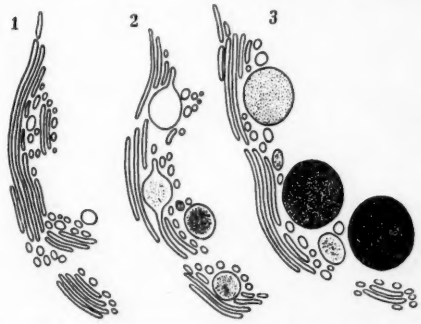


Fig. 9. Schema der Kondensationsarbeit in einem Golgi-System. An die Stelle der mit OsO_4 sich schwärzenden „Präsubstanz" im Schema von HIRSCH [*12*] ist nun ein System von Golgi-Lamellen getreten, entdeckt durch das Elektronenmikroskop. *1* System in „Ruhe". *2* System bildet Golgi-Vakuolen und Intermediärkörper. *3* Aus den Intermediärkörpern entstehen die dunklen Zymogen-Granula mit eigener Membran. Das Schema von G.C. HIRSCH 1940 wurde glücklich in das Gebiet der Elektronenmikroskopie „übersetzt" von DON W. FAWCETT 1959 [*6A*]

Diese Kondensierung wurde schon 1944 durch SLUITER [*42*] statistisch nachgewiesen durch Anwendung der Stufenzählmethode [*9*] bis [*16*]. Fig. 9 zeigt diese Kondensationsarbeit der Golgi-Körper nach FAWCETT (1959) [*6A*].

1. 1953 homogenisierte und fraktionierte CHESIN [*4*] das normale Pankreas. Er fand von 100% Amylase im totalen Homogenat folgende Prozente in den Fraktionen: 4% in den Kernen (Verunreinigung), 27 bis 53% im „Überstehenden", d.h. vielleicht in den Golgi-Körpern? Wenn der Autor dann der „Fraktion der Zymogen-Granula" hinzufügte 16 verschiedene Aminosäuren, ATP, O_2, Mitochondrien und etwas vom Überstehenden (Golgi-Körper?), aber keine „kleinen Granula" des Ergastoplasmas: so wird von diesem Gemisch in 15 bis 20 min der Amylase-Gehalt um rund 6% erhöht. — Die Versuche zeigen die Notwendigkeit der Mitochondrien und der ATP für die Synthese. Aber es muß gegen diese Versuche eingewendet werden, daß die strukturelle Zusammensetzung der „Fraktion der Zymogen-Granula" und des „Überstehenden" mikroskopisch nicht geprüft wurde. Es ist durchaus denkbar,

daß diese Fraktionen RNPr-Granula enthielten. Deswegen kann kein Schluß auf die Lokalisation der Enzymentstehung aus diesen Versuchen gezogen werden.

2. 1954 fertigte MARSHALL [28] spezifische Antigenkörper an gegen Carboxypeptidase, Chymotrypsinogen und Desoxyribonuclease. Er markierte diese Antikörper mit Fluoreszin und untersuchte im Fluoreszenz-Mikroskop Schnitte des Rinderpankreas von

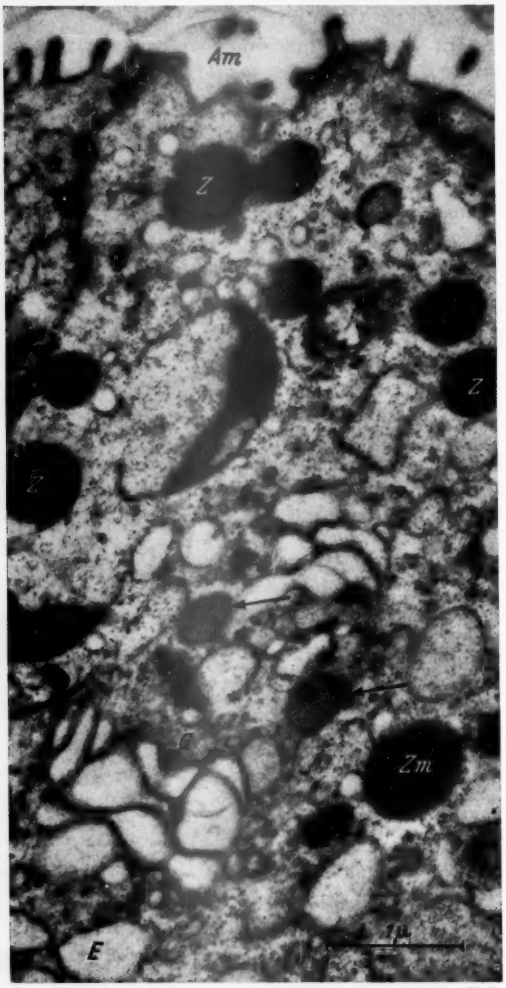


Fig. 10. Elektronenmikroskopische Aufnahme eines apikalen Teiles einer Pankreaszelle bei einem Rattenembryo von 40 mm Länge. Unten Endoplasmatische Kanäle (*E*), umgeben von RNPr-Granula. Weiter oben ein Golgi-Körper (*G*) mit kleinen, quergeschnittenen Kanälen und großen Golgi-Vakuolen 2, welche von einer Doppelmembran umgeben sind. Die beiden Pfeile (→) weisen auf *Intermediärkörper*. Um die Zymogen-Granula (*Z*) wird eine neue Membran gebildet bei (*Zm*). Aus D. FERREIRA 1959 [7]

2 μ Dicke. Die hell leuchtenden Stellen sind diejenigen Orte in den Pankreaszellen, an welchen das betreffende Enzym sich befindet. Das Ergebnis war: Die Carboxypeptidase und das Chymotrypsinogen leuchten nur in den Zymogen-Granula; zwischen diesen und dem Kern ist das Leuchten nur auf einzelne Punkte beschränkt und wesentlich schwächer: dies sind entweder Golgi-Körper oder mit Autofluoreszenz schwach leuchtende Mitochondrien. Die Kerne und das Ergastoplasma leuchten nicht. — Im Gegensatz dazu steht die Desoxyribonuclease: Zwar leuchten die Zymogen-Granula ebenfalls am stärksten, und schwach leuchtende Punkte finden sich auch im Bereiche der Golgi-Körper; aber auch im Ergastoplasma sind vereinzelte leuchtende Punkte zu erkennen. Das weist darauf hin, daß diese Ribonuclease nicht nur (wie bekannt) in dem Sekret, also in den Zymogen-Granula, vorkommt, sondern auch basal von diesen, d.h. wahrscheinlich in den Golgi-Körpern [15].

3. 1957 schlossen FARQUHAR und WELLINGS [6] bei dem Pankreas der Maus aus elektronenmikroskopischen Beobachtungen bei 15, 30, 60 und 120 min nach der Reizung mit Pilocarpin: Die Golgi-Körper mit ihren Vakuolen werden bedeutend vergrößert und lassen die Zymogen-Granula in den Vakuolen entstehen. Die Golgi-Körper sind der erste Ort der Bildung dieser Zymogen-Granula. Leider geben die Autoren nur die elektronenmikroskopischen Abbildungen von 120 min; deswegen bleibt die Fließbandarbeit noch unbelegt. Doch kann man erkennen, daß die Vakuolen keine Endoplasmatischen Kanäle sind und daß die großen Granula, umgeben von Golgi-Lamellen, bei einem Durchmesser von 0,5 μ keine intrazisternen Granula sein können, sondern wirklich Zymogen-Granula.

4. 1958 gab dann HIRSCH [14] eine Hypothese der Stadien der Fließarbeit in den Golgi-Körpern des Pankreas, welche in Fig. 12 verbessert wiedergegeben wird. Dabei wurden in dem Golgi-Feld vier Stadien unterschieden in folgendem Zusammenhang:

Golgi-Bläschen →	Vakuole 1 →	Vak. 2 →	Intermed. K. →	Zym.-Granula
~0,02μ	0,07—0,2μ	0,2—0,3μ	0,3—0,6μ	0,5—1,5μ

Dieser ziemlich gleichmäßig wachsende Durchmesser könnte als Argument für eine genetische Reihe angesehen werden; aber eine Größenordnung ist noch kein Beweis! — Als weiteres Argument kann ich noch die Umwandlung der Form anführen (Fig. 12):

Golgi-Bläschen (etwa 0,02 μ): hellere Stellen in dem Raum zwischen den etwa parallel verlaufenden Golgi-Lamellen.

Golgi-Vakuole Typus 1 (etwa 0,07 bis 0,2 μ): mit hellem Inhalt, umgeben von einer einzigen Lamelle.

Golgi-Vakuole Typus 2 (etwa 0,2 bis 0,3 μ): mit hellem Inhalt, aber am Rande schon dichterer Substanz.

Intermediärer Körper (etwa 0,3 bis 0,6 μ): mit dunklem körnigem Inhalt und einigen helleren Bläschen; am Rande ein Rest von Golgi-Lamellen.

Zymogen-Granula (etwa 0,5 bis 1,5 μ): dicht angefüllt mit einer wahrscheinlich geordneten, aber elektronenmikroskopisch gleichmäßig aussehenden großen Menge von Enzymen, umgeben von einer *Membran* [31b].

Beide Argumente: Größe und Form geben ein gewisses Maß von Wahrscheinlichkeit, sind aber auch zusammen noch kein Beweis. Einen Beweis können nur zukünftige Stufenuntersuchungen mit Statistik liefern.

5. 1959 hat J. D. FERREIRA [7] elektronenmikroskopisch das Werden des Pankreas untersucht bei Rattenembryonen von 8 bis 40 mm Länge (Fig. 10). Dies ist das erste Mal, daß die Golgi-Körper ontogenetisch am Pankreas in Stufen untersucht wurden. Schon in den frühesten Stadien bilden die Golgi-Körper kleine Systeme von regelmäßigen, parallelen Doppellamellen mit einer Wanddicke von 60 Å, einem Durchmesser von 170 Å und einem Abstand von ~80 Å. Aber es sind zuerst noch keine Golgi-Vakuolen vorhanden. Später jedoch finden sich an beiden Enden der Lamellen Ausweitungen: die Vakuolen von 200 bis 400 Å Durchmesser. Die Zahl dieser Vakuolen wächst mit zunehmendem Alter des Embryos. Dann verwandeln sich die Doppellamellen in „Sack-

systeme" mit abgeplatteten Wänden durch Ausweitung der parallelen Lamellen. Gleichzeitig treten die ersten Zymogen-Granula auf. Zwischen den Vakuolen und den Zymogen-Granula beobachtet der Verfasser „Zwischenstadien", welche in Größe (0,5 μ) und Form den *„Intermediär-Körpern"* von HIRSCH 1958 entsprechen (Fig. 10). Durch Verfolgen der Ontogenese der Golgi-Körper ist hier elektronenmikroskopisch zum ersten Male die Zeitfolge, d.h. die Dynamik der Golgi-Körper, dargestellt worden. Dadurch wurde ein neues Argument für die Richtigkeit der oben dargestellten Reihenfolge der Stadien in den Golgi-Körpern entdeckt.

Aber es bleiben noch viele Fragen unbeantwortet, vor allem biochemischer Art. Erst 1954 ist es gelungen, die Golgi-Systeme aus der Epididymis zu isolieren [*38A*]. Die chemische Analyse wurde 1959 [*21A*] erweitert und zeigte (im Vergleich mit anderen Fraktionen) einen hohen Gehalt an Lipoid-P und an saurer Phosphatase. RNS, alkalische Phosphatase und Cytochrom-c-Reduktase waren verhältnismäßig recht gering vorhanden. Die Golgi-Fraktion reagiert stark mit dem Perjod-Schiff-Reagenz, mit Osmiumsäure und Pyronin, aber nicht mit Neutralrot oder Methylenblau. In der Golgi-Fraktion fehlten vollständig: Ascorbinsäure, Cytochrom-Oxydase, Desoxyribonuclease, β-Glukuronidase, Esterase und ATPase. Gerade der Mangel an diesen Enzymen weist darauf hin, daß eine primäre Synthese von Verdauungsenzymen in den Golgi-Körpern unwahrscheinlich ist. Die Tätigkeit der Golgi-Systeme liegt vielmehr in einer *Kondensierung von vorgebildeten Enzymen mit Hilfe von Lipoiden und Phosphor-Verbindungen* [*12*]. Die auf S. 29 vorgetragenen Anschauungen über den Transport von Proteinen können auch auf die Kondensierung von Enzymen durch die Golgi-Lamellen angewandt werden.

C. Eine Brücke zwischen Ergastoplasma und Golgi-Körpern. Nehmen wir an, daß die Reihenfolge der Tätigkeiten im Ergastoplasma und in den Golgi-Körpern etwa richtig ist, dann fehlt in unserer Vorstellung der Mittelteil zwischen den intrazisternen Granula und den intralamellären Bläschen der Golgi-Lamellen. Zwischen beiden Teilen muß aber eine Brücke zu finden sein, d.h. ein physiologischer Zusammenhang zwischen dem Ergastoplasma einerseits und den Golgi-Körpern mit den aus ihnen entstehenden Zymogen-Granula andererseits.

Wie ist es nun möglich, daß die Enzyme wandern von den intrazisternen Granula an der Basis der Zelle über das Golgi-Feld zu den Zymogen-Granula am Apex? Der Weg ist oft bis zu 10 μ lang; auch PALADE hat 1959 [*31b*] diese Frage gestellt, aber er hat sie nicht beantworten können.

Als Brücke zwischen dem Ergastoplasma und den Golgi-Körpern kämen zwei Möglichkeiten in Frage: Erstens, die intrazisternen Granula werden im Ergastoplasma aufgelöst, und ihre Teile (Enzyme) werden durch Plasmaströmung zum Zellapex befördert; oder zweitens die intrazisternen Granula machen sich Stück für Stück aus dem Ergastoplasma los und wandern isoliert zum Zellapex. Die erste Möglichkeit ist weniger wahrscheinlich, weil eine Auflösung an der Zellbasis bisher in der lebenden Zelle nicht wahrgenommen wurde [*10*], obwohl die intrazisternen Granula so groß sind, daß sie auch lichtmikroskopisch gesehen werden können. Dagegen ist die Wanderung dieser Granula in der lebenden Zelle mehrere Male beobachtet worden (Fig. 11):

Entdeckt wurde diese Wanderung 1931 durch HIRSCH [*10*]. Im lebenden Pankreas entstehen nach Pilocarpin-Reizung an der Zellbasis im Bereiche des Ergastoplasmas feinste Granula (*A*); sie haben einen Durchmesser von etwa 0,3 bis 0,4 μ (HIRSCHs Angabe 0,03 μ ist ein Druckfehler). Das Ergastoplasma selber war damals vital noch nicht zu sehen, aber wohl die in das Ergastoplasma eingebetteten Mitochon-

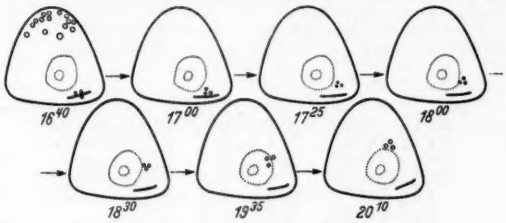


Fig. 11. Lebende Pankreaszelle im Verbande des Azinus bei gut erhaltenem Blutkreislauf. Pilocarpinreiz 15^{40}. Zeichnung einer Zelle mit Zymogen-Granula nur 16^{40}. Dann Beobachtung nur eines einzigen „Sternbildes" von drei Granula. Das eine hier gezeichnete Mitochondrium bewegt sich etwas schlängelnd, wurde aber nicht weiter beachtet. Verfolgt wurden innerhalb von fast 4 Std die Bewegung der drei Granula, die von 17^{00} bis 20^{10} zum Golgi-Felde wandern, wo sie verschwinden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese Art Granula identisch ist mit den intrazisternen Granula der Fig. 2. Nach G. C. HIRSCH 1931 [*10*]

drien. HIRSCH ist deswegen dem Irrtum verfallen, daß die Granula *A* an der Oberfläche der Mitochondrien entstünden. Erst das Elektronenmikroskop hat gezeigt, daß diese Granula nicht an der Oberfläche der Mitochondrien entstehen, sondern neben diesen in den Endoplasmatischen Kanälen [*39*]. In den ersten Stunden nach Pilocarpin-Reiz vermehren sich diese Granula *A*. Wenn man einen kleinen Ausschnitt aus dem Basalplasma als optisches „Feldchen" „herausschneidet", so sieht man, daß während der ersten 3 Std ~10 bis 40 Granula in diesem „Feldchen" entstehen; dann sinkt die Zahl herab auf fast 0, weil die Granula abwandern. Die Vermehrungsgeschwindigkeit der Granula beträgt zu Anfang etwa 100 bis 150% pro Stunde.

HIRSCH konnte nun zeigen, daß ein physiologischer Zusammenhang besteht zwischen diesen Granula und dem Golgi-Felde. Fig. 11 zeigt eine der vielen Beobachtungen, bei denen nur eine einzige Gruppe von drei Granula und ein einziges Mitochondrium von 16^{40} bis 20^{10} beobachtet wurden: Das „Sternbild" dieser drei Granula „irrlichteriert" etwa 1 Std hin und her und wandert dabei zum Golgi-Felde, wo es verschwindet, weil es sich auflöst. Der Kurs der drei Granula ist zickzackförmig; die Geschwindigkeit der Bewegung beträgt ~1 μ in 7 bis 13 min; die kleineren Granula wandern schneller als die größeren. Sobald ein Granulum in der Nähe des Golgi-Feldes angekommen ist, steht es still und verschwindet, d.h., es löst sich auf. — Frage: Sind die Granula von HIRSCH identisch mit den elektronenmikroskopisch von SIEKEVITZ und PALADE [*39*] entdeckten intrazisternen Granula? 1. Die Größe: HIRSCHs Granula haben im Lichtmikroskop einen Durchmesser von 0,3 bis 0,4 μ.

Die intrazisternen Granula haben einen Durchmesser von 0,2 bis 0,3 μ (Fig. 2). Beide Gebilde sind also gleich groß, beide sind lichtmikroskopisch sichtbar. — 2. Die chemische Zusammensetzung: Beide sind keine Lipoidtropfen, sondern enthalten größtenteils Proteine, wie sowohl HIRSCH von seinen Granula als auch SIEKEVITZ und PALADE von den intrazisternen Granula nachwiesen. Die Bewegung vom Ergastoplasma zum Apex der Zelle ist für HIRSCHs Granula gesichert durch Nachuntersuchungen der Befunde durch RIES [37], JÄRVI [19] und DUTHIE [5]. Ich glaube also, daß beide Granulaformen identisch sind.

Was geschieht nun mit diesen intrazisternen Granula nach ihrer Wanderung im Golgi-Felde? Es gibt zwei Möglichkeiten: entweder gehen die intrazisternen Granula durch Wachstum im Golgi-Felde direkt in Zymogen-Granula über, oder sie werden vor dem Golgi-Felde aufgelöst, und die gelösten Teile werden in den Golgi-Körpern kondensiert. Wenn sie direkt in Zymogen-Granula übergingen, so müßte das durch Lebendbeobachtung im Lichtmikroskop gesehen werden können. Aber bei allen bisherigen Untersuchungen unter physiologischen Umständen [5], [10], [19], [37] wurde beobachtet, daß diese intrazisternen Granula im Golgi-Felde verschwinden. Ihr „Schicksal" im Golgi-Felde gab Anlaß zu mehreren Hypothesen. Von diesen kann heute wohl nur noch die eine aufrechterhalten werden: Die intrazisternen Granula lösen sich auf, und ihre Bestandteile, die mehr oder weniger fertigen Enzyme, werden von den Golgi-Körpern aufgenommen und gewissermaßen „verpackt" in den allmählich entstehenden, immer größer werdenden Zymogen-Granula. Diese Kondensation der Bestandteile der intrazisternen Granula wäre damit die Grundfunktion der Golgi-Körper [9], [11], [12].

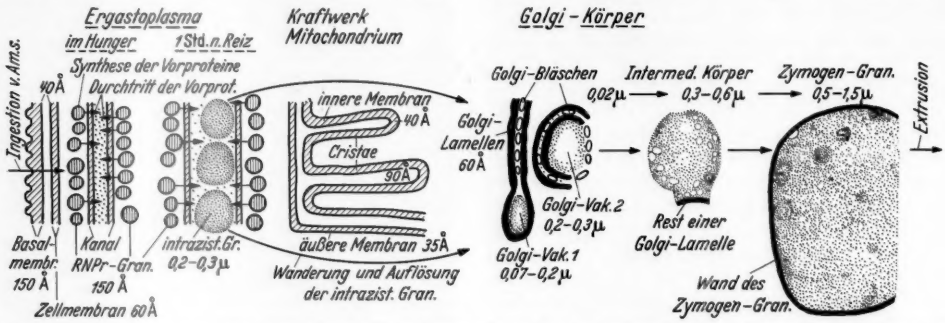


Fig. 12. Neues Schema des einheitlichen Fließbandes bei der Enzymbildung in einer Azinuszelle des Pankreas. Ergänzt wurde das Schema von G. C. HIRSCH [14] durch Einfügung der intrazisternen Granula und deren Wanderung zum Golgi-Felde sowie durch Hinzufügung einiger Größenangaben. Die Zeichnung ist nicht absolut maßstabgerecht

Fig. 12 zeigt das heutige Bild der Enzymentstehung im Pankreas:

1. Ingestion: Aktiver Transport von Aminosäuren, Phosphaten, O_2 aus dem Blute [14] durch die Basalmembran und Zellmembran.

2. Synthese:

A. Aminosäuren, Phosphate, RNS, von verschiedenen Produzenten geliefert, gelangen in die RNPr-Granula 2 bis 4 (S. 27). In diesen wird die RNS allmählich weniger, und der Proteingehalt steigt. Die Proteine (oder Vorproteine) lösen sich von den RNPr-Granula und werden an das Cytoplasma abgegeben.

B. Die Proteine werden mittels aktiven Transportes durch die Wand der Endoplasmatischen Kanäle geschleust mit Hilfe von Phosphaten (S. 29, Fig. 5) und innerhalb der Kanäle in den intrazisternen Granula zu Enzymen (oder Vorstufen der Enzyme) synthetisiert.

C. Die intrazisternen Granula wandern zum Golgi-Felde und werden dort gelöst (S. 33).

D. Die gelösten Enzyme (oder ihre Vorstufen) werden von den Golgi-Lamellen aufgenommen und kondensiert, vielleicht auch einem letzten Umbau unterworfen. Im Laufe der Reihe Golgi-Bläschen → Golgi-Vakuole 1 → Golgi-Vakuole 2 → Intermediärkörper → Zymogen-Granulum [14] werden die Enzyme „verpackt", und das „Paket" wird mit einer Membran versehen (Fig. 9). In diesem Zustande ruhen die Enzyme.

3. Extrusion. Auf Grund eines nervösen oder chemischen Reizes werden die Zymogen-Granula gelöst und ihre Enzyme durch die Apexmembran der Zelle an das Drüsenlumen abgegeben [14], [20].

Die für diese Synthesen und für den Transport notwendige Energie wird durch die Mitochondrien geliefert [25].

Diese dynamische Vorstellung kann mit den Bildern einer „Fabrik" und eines „Fließbandes" gedacht werden. Sie ist ein Beispiel für den seit langer Zeit geahnten Zusammenhang zwischen Nukleolen, Ergastoplasma, Mitochondrien und Golgi-Körpern.

Literatur

[1] BRACHET, J.: a) Bull. Soc. Chem. Biol. **31**, 724 (1949); b) Biochemical Cytology, New York: Academic Press 1957; c) Autoreproduction des principeaux constituants de la cellule animale. In: Mécanismes d'autoreproduction, ed. A. THOMAS. Paris: Masson & Cie. 1957. — [2] CHAUVEAU, J., Y. MOULÉ u. C. ROUILLER: Exp. Cell. Res. **13**, 398 (1957). — [3] CALDWELL, M. L., E. S. DICKEY, V. M. HANRAHAN, H. C. KUNG, J. T. KUNG u. M. MISKO: J. Amer. Chem. Soc. **76**, 143 (1954). — [4] CHESIN, R. B.: Biochemija [Moskau] **18**, 462 (1953); **19**, 406 (1954). — [5] DUTHIE, E. S.: Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **114**, 20 (1933); Arch. exp. Zellforsch. **15**, 352 (1934). — [6] FARQUHAR, M. G., u. S. R. WELLINGS: J. Biophys. Biochem. Cytol. **3**, 319 (1957). — [6A] FAWCETT, DON W.: In: Developmental Cytology, ed. D. RUDNIK. New York: Ronald Press Co. 1959. — [7] FERREIRA, J. DAVID: A differençiacao do chondrioma, aparello de Golgi e ergastoplasma. Fac. de Medicina. Lissabon 1959. — [8] HAGUENAU, F.: Int. Rev. Cytol. **7**, 425 (1958). — [9] HIRSCH, G. C.: Biol. Zbl. **38**, 41 (1918). — [10] HIRSCH, G. C.: a) Z. Zellforsch. **14**, 517 (1931); b) **15**, 37 (1931); c) **15**, 290 (1932); d) ROUX' Arch. **123**, 792 (1931). — [11] HIRSCH, G. C.: Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. **6**, 88 (1931). — [12] HIRSCH, G. C.: Allgemeine Stoffwechselmorphologie des Cytoplasmas. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. II/1, S. 92—213. Heidelberg: Springer 1955. — [13] HIRSCH, G. C.: Dynamical Aspects

on Cell Secretion. Symposion Univ. Belo Horizonte, ed. G. SCHREIBER, S. 25—45. 1955. — [14] HIRSCH, G. C.: Naturwiss. 45, 349 (1958). — [15] HIRSCH, G. C.: Materia Medica Nordmark 11, 149 (1959). — [16] HIRSCH, G. C.: Dynamik der tierischen Zelle. Einige neuere Ergebnisse der Strukturforschung und Biochemie. Handbuch der Biologie, Bd. I. Konstanz: Athenaion-Verlag 1959—1960. — [17] HOKIN, L. E.: Biochim. Biophys. Acta 18, 379 (1955). — [18] HOKIN, L. E., u. M. R. HOKIN: Gastroenterology 36, 365 (1959). — [19] JÄRVI, O.: Z. Zellforsch. 31, 1 (1940). — [20] JUNQUEIRA, L. C. U., u. G. C. HIRSCH: Int. Rev. Cytol. 5, 323—364 (1956). — [21] JUNAUEIRA, L. C. U., G. C. HIRSCH u. H. A. ROTHSCHILDT: Biochem. J. 61, 275 (1955). — [21A] KUFF, E. L., u. A. J. DALTON: In: Subcellular particles, ed. T. HAYASHI. New York: Ronald Press Co. 1959. — [22] LAIRD, A. K., u. A. D. BARTON: Biochem. Biophys. Acta a) 25, 56 (1957); b) 27, 13 (1958). — [23] LANG, K., u. G. SIEBERT: In FLASCHENTRÄGER u. LEHNARTZ, Physiologische Chemie, Bd. 2/1. Heidelberg: Springer 1954. — [24] LANGER, H.: Z. vergl. Physiol. 39, 241 (1957). — [25] LINDBERG, O., u. L. ERNSTER: Chemistry and physiology of mitochondria and microsoms. Protoplasmatologia III. Wien: Springer 1954. — [26] LITTLEFIELD, J. W., E. B. KELLER u. P. C. ZAMENICK: J. Biol. Chem. 217, 111 (1955). — [27] LOFTFIELD, R. B.: Progr. Biophys. Biochem. 1958. — [28] MARSHALL jr., J. W.: Exp. Cell Res. 6, 240 (1954). — [29] MOULÉ, Y., CH. ROUILLER u. J. CHAVEAU: 9. Kongr. für Zellbiologie, St. Andrews, Sept. 1957. — [30] NEUBERGER, A. (Editor): Symposion on protein structure. London: Methuen; New York: J. Wiley 1958. — [31] PALADE, G. E.: a) J. Biophys. Biochem. Cytol. 2 Suppl., 85 (1956); b) Functional changes of cell components. In: Subcellular particles, ed. T. HAYASHI. New York: Ronald Press Co. 1959. — [32] PALADE, G. E., u. K. R. PORTER: a) J. Exp. Med. 100, 641 (1954); b) J. Biophys. Biochem. Cytol. 1, 567 (1955); c) 2 Suppl. 85 (1956). — [33] PALADE, G. E., u. P. SIEKEVITZ: J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 671 (1957). — [34] PALAY, L. L.: The morphology of secretion. Frontiers in Cytology. New Haven: Yale University Press 1958. — [35] PFEIFFER, H. H.: La Cellule 58, 30 (1956). — [36] PORTER, K. R.: Harvey Lect. 51, 145 (1957). — [37] RIES, E.: Z. Zellforsch. 22, 521 (1935). — [38] ROBERTIS, E. DE: J. Histochem. Cytochem. 2, 341 (1954). — [38A] SCHNEIDER, W. C., u. E. L. KUFF: Amer. J. Anat. 94, 209 (1954). — [39] SIEKEVITZ, P., u. G. E. PALADE: J. Biophys. Biochem. Cytol. a) 4, 203 (1958); b) 4, 309 (1958); c) 4, 557 (1958); d) 5, 1 (1959). — [40] SJÖSTRAND, F. S.: a) J. Appl. Physics 24, 116 (1953); b) Int. Rev. Cytol. 5, 455 (1956). — [41] SJÖSTRAND, F. S., and V. HANZON: Exp. Cell Res. 7, 393 (1954). [42] SLUITER, J. W.: Z. Zellforsch. 33, 187 (1944). — [43] STRAUB, F. B.: Symposia Soc. Exp. Biol. 12, 176 (1958). — [44] SZABÓ, M. T., T. GARZÓ: Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 12, 303 (1957). — [45] TASHIRO, Y., A. SATO u. Y. FURUTA: Cytologia [Tokyo] 22, 136 (1957). — [46] YOUNATHAN, E. S., u. E. FRIEDEN: J. Biol. Chem. 220, 801 (1956). — [47] HIRSCH, G. C.: Das Ergastoplasma. Protoplasmatologia Bd. III. Wien: Springer-Verlag 1960. — [48] STRITTMATTER, C. F., u. E. G. BALL: Proc. Nat. Acad. Sci. USA 38, 19 (1952).

Göttingen, Zoologisches Institut der Universität

Eingegangen am 26. September 1959

Kurze Originalmitteilungen

Für die Kurzen Originalmitteilungen sind ausschließlich die Verfasser verantwortlich

Paramagnetische Resonanz bei belichtetem Silberbromid

In Fortführung der Untersuchungen lichtempfindlicher Substanzen wurde die paramagnetische Elektronenresonanz nach Messungen an Silberchlorid[1]) für Messungen an belichtetem und unbelichtetem Silberbromid herangezogen. Das

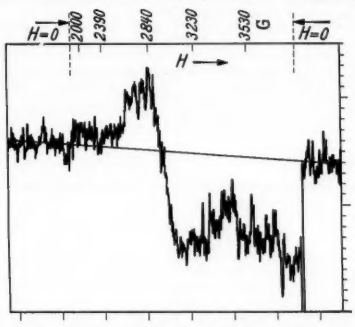


Fig. 1. Registrierkurve (1. Ableitung der Resonanzkurve) von eine Stunde belichtetem Silberbromid bei 290° K

Silberbromid wurde ebenfalls in Pulverform verwendet[2]). Die Belichtung erfolgte durch mehrstündiges Bestrahlen mit einer Hg-Quarzlampe.

Die Messungen erfolgten bei 9400 MHz und zunächst bei Zimmertemperatur. Während die unbelichtete Substanz keine Resonanzlinie aufwies, zeigte die eine Stunde lang belichtete Substanz eine breite Linie, die sich deutlich aus dem Rauschen hervorhebt. Die Magnetfeldstärke bei Resonanz entspricht einem g-Faktor von etwa 2,3; die Linienbreite beträgt etwa 400 Gauß (Fig. 1). Auch bei länger anhaltender Belichtung bis zu 80 Std wurde keine so schmale Linie bei $g = 2$ wie beim Silberchlorid gefunden. Dagegen wurde die breite Linie schwächer, so daß sich nur noch ein Rauschabstand von 1:2 ergab. Der g-Faktor verringerte sich (2,1 bis 2,2), und die Linienbreite blieb etwa gleich.

Die durch die Belichtung von Silberbromid erzeugten Veränderungen in der Substanz werden also anderer Natur sein als die Veränderungen bei dem sehr stark belichteten Silberchlorid, bei dem als die Elektronenresonanz verursachende Teilchen Leitungselektronen angenommen werden können. Bei schwächer belichtetem Silberchlorid wurde andeutungsweise ebenfalls eine sehr breite Linie mit größerem g-Wert gefunden.

Das Verhalten der beobachteten Resonanzlinie nach verschiedener Belichtung läßt den Schluß zu, daß das Resonanzsignal auf photochemische Reaktionsprodukte zurückzuführen ist. Die Intensitätsabnahme nach sehr starker Belichtung ist eine Folge der beginnenden Koagulation dieser primären Reaktionsprodukte. Ob bei den hier mitgeteilten Versuchen Cu^{++}-Ionen[3]) eine Rolle spielen, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Der geringe Cu-Gehalt ($< 5 \cdot 10^{-6}$ Gewichtsprozent) und der Gang der Belichtung lassen einen Cu-Einfluß nicht als sehr wahrscheinlich erscheinen.

Herrn Professor STASIW danken wir für Diskussionen, Herrn Priv.-Doz. Dr. LUTZE für die Durchführungsmöglichkeit der Messungen und Herrn Dr. KESSLER vom Physikalisch-Chemischen Institut für die spektroskopische Analyse.

Physikalisches Institut der Technischen Hochschule, München

D. BÖSNECKER und W. WAIDELICH

Eingegangen am 14. September 1959

[1]) BÖSNECKER, D., u. W. WAIDELICH: Naturwiss. 46, 598 (1959). — [2]) AgBr von Th. Schuchardt, München. — [3]) TUCKER, R.: Phys. Rev. 112, 725 (1958).

Absorptionsanalyse von Röntgenstrahlen

Die Kenntnis der Beziehung zwischen Dosis und Effekt stellt die Grundlage von Strahlenbiologie und Strahlentherapie dar. Einen Einblick in den Wirkungsmechanismus von Röntgenstrahlen eröffnet die Absorptionsanalyse. Um das Prinzip dieser Methode aufzuzeigen, wurde als Bestrahlungseffekt die Fluoreszenzanregung von Natrium-Salicylat gewählt. Der chemische Aufbau dieses Leuchtstoffes ist bekannt; die Bruttoformel lautet: $C_7H_5O_3Na$. Die effektive Ordnungszahl ($= Z_{eff}$) berechnet sich nach den Angaben von FRICKE und GLASSER[1]) zu 7,6. Somit ist Natrium-Salicylat wasser- bzw. luftäquivalent[2]). Bei geeigneter Anordnung entspricht die Energieabsorption im Leuchtstoff der r-Dosis. Der r-rad-Konversionsfaktor bleibt daher im angegebenen Wellenlängenbereich nahezu konstant.

In Fig. 1 wurde oben links die Anzahl der einzelnen Atome der Molekel in der Reihenfolge der Ordnungszahl sowie Z_{eff} aufgetragen. Rechts im Bilde ist die relative Absorption der in Betracht kommenden Elemente in Abhängigkeit von der

Strahlenqualität angegeben (fein ausgezogene Kurven). Die Werte sind auf die Energieabsorption in Wasser bezogen. Der charakteristische Verlauf der Absorptionskurven ist durch den wechselnden Einfluß von Photo- und Compton-Effekt erklärbar. Während im Bereiche hoher Strahlenenergien ($\lambda < 0{,}08$ Å) der Compton-Effekt ausschlaggebend ist, überwiegt bei weicheren Strahlungen ($\lambda > 0{,}4$ Å) der Photoeffekt. Für das Ausmaß des Compton-Effektes ist die Elektronenkonzentration, für den Photoeffekt die Ordnungszahl des durchstrahlten Materials bestimmend. Trotz großer Unterschiede in Z_{eff} weichen die Elektronendichten N_{eff} nur wenig voneinander ab (Tabelle). Bei höheren Strahlungsenergien zeigen deshalb die Kurven für die Energieabsorption der einzelnen Elemente einen weitgehend gleichartigen Verlauf.

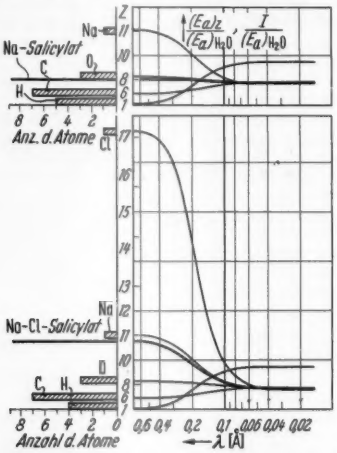


Fig. 1. Absorptionsanalyse von Natrium-Salicylat (oben) und NaCl-Sylocylat (unten). Links: atomare Zusammensetzung und Z_{eff}. Rechts: relative Strahlenabsorption; fein ausgezogene Kurven: Energieabsorption (E_a) der einzelnen Elemente relativ zu Wasser in Abhängigkeit von der Wellenlänge der Röntgen- bzw. Gamma-Strahlung; fette Kurven: gemessene Fluoreszenzintensität (I), bezogen auf die in Wasser absorbierte Energie

Im rechten Teil der Fig. 1 wurde weiterhin die mit Hilfe eines Multipliers gemessene Fluoreszenzintensität — ebenfalls bezogen auf die in Wasser absorbierte Dosis — als breit ausgezogene Kurve angegeben. Diese erreicht im Gebiete der

Tabelle

	Z_{eff}	N_{eff}
Natrium-Salicylat	7,6	$3{,}085 \cdot 10^{23}$
Wasser	7,43	$3{,}343 \cdot 10^{23}$
Luft	7,7	$3{,}02 \cdot 10^{23}$
Na-Cl-Salicylat	10,69	$3{,}034 \cdot 10^{23}$

großen Wellenlängen genau die Ordinatenhöhe der berechneten und links markierten effektiven Ordnungszahl. Das bedeutet, daß an der betrachteten Wirkung der Röntgenstrahlen *die gesamte Molekel* Anteil hat.

Im unteren Teil der Figur sind die Verhältnisse für die Fluoreszenzanregung von Na-Cl-Salicylat dargestellt. Auch hier fällt die Wirkungskurve im Bereich des Photoeffektes mit der Ordinatenhöhe von Z_{eff} zusammen. *Die Fluoreszenzanregung bleibt also auch nach dem Einbau eines Chloratoms in die Natrium-Salicylat-Molekel eine Molekelwirkung.* Käme dem Chloratom für den Fluoreszenzvorgang keine Bedeutung zu, so bliebe die Wellenlängenabhängigkeit der Fluoreszenzerregung gegenüber unchloriertem Natrium-Salicylat praktisch unverändert. Die Wirkungskurve ließe sich in diesem Falle nicht durch Z_{eff} und N_{eff} charakterisieren. Tatsächlich aber wirkt das Chloratom beim Fluoreszenzvorgang mit, es vermindert andererseits die Fluoreszenzintensität. Die Erklärung für die partielle Fluoreszenzlöschung durch die Chlorierung kann aus der Absorptionsanalyse nicht abgeleitet werden.

Die biologische Wirksamkeit einiger Medikamente und Hormone ist an einzelne Atome bzw. Atomgruppen der Molekel gebunden. Hier sind Differenzen zwischen der durch Z_{eff} und N_{eff} bestimmten Absorptionskurve und der Wirkungskurve zu erwarten. Erste Voruntersuchungen bestätigen ein Auseinanderweichen von Absorptions- und Effektkurve.

Aus der Übereinstimmung oder Diskrepanz von Absorptions- und Wirkungskurve sowie aus dem Grad der Abweichung können Rückschlüsse auf den physiko-chemischen bzw. biophysikalischen Wirkungsmechanismus der Röntgenstrahlen gewonnen werden. Die Absorptionsanalyse hilft mit, den Zusammenhang zwischen applizierter und absorbierter Dosis einerseits und der Strahlenwirkung andererseits aufzuklären.

Strahleninstitut der Freien Universität Berlin am Städtischen Krankenhaus Westend, Berlin-Charlottenburg 9 (Direktor: Prof. Dr. H. Oeser)

E. Krokowski

Eingegangen am 28. Oktober 1959

[1]) Fricke, H., u. O. Glasser: Z. Physik **29**, 374 (1924); Fortschr. Röntgenstr. **33**, 243 (1952). — [2]) Krokowski, E.: a) Diss. Berlin 1956; b) Z. Naturforsch. **14b**, 5, 304 (1959). c) Naturwiss. **45**, 509 (1958).

Messung des luftelektrischen Feldes in der freien Atmosphäre

Ein offenes Problem der Luftelektrizität ist die Spannung zwischen Ionosphäre und Erdoberfläche. Die Werte, die hierfür von verschiedenen Autoren angegeben werden, schwanken zwischen 200 und 400 kV. Darüber hinaus liegen keine sicheren Messungen über eine etwaige tägliche oder jährliche Variation vor. Erst die genaue Kenntnis vom Absolutwert und dessen zeitlichen Schwankungen erlaubt eine Aussage darüber, ob die Weltgewittertätigkeit allein zur Aufrechterhaltung des Potentials der Ionosphäre beiträgt.

Dieses Potential wird ermittelt durch Integration des luftelektrischen Feldes über die Höhe. Um Verfälschungen des Ergebnisses zu vermeiden, mißt man den Feldstärkeverlauf bei Wetterlagen, bei denen keine hohen Ladungskonzentrationen durch aktive Wolken usw. auftreten. Die im folgenden wiedergegebenen Resultate beziehen sich deshalb ausschließlich auf Schönwetterlagen, bei denen eine stetige Abnahme des Feldes mit der Höhe im Zusammenhang mit der Leitfähigkeitszunahme erwartet werden kann.

Tabelle 1. *Gemessene und berechnete Feldwerte in Volt/m in der freien Atmosphäre*

Höhe über NN	Autor					
	Lugeon[1])	Hatakeyama[2])	Stergis[3])	Koenigsfeld[4])	Gish[5])	Stergis[6])
	gemessen				berechnet	
	V/m	V/m	V/m	V/m	A*) V/m	B*) V/m
5 km	13	37			11,5	11,8
10 km	8	12	6	0—10	3,9	3,6
15 km	7	5	3	0—10	1,8	1,7
20 km	5		etwa 1	0—10	0,9	0,8
25 km	etwa 4				0,5	0,4
30 km					0,3	

*) A berechnet aus theoretischer, B aus gemessener Leitfähigkeit.

Wie die Zusammenstellung der Tabelle 1 zeigt, bestehen erhebliche Differenzen zwischen den Feldwerten, die bisher von anderen Autoren gemessen wurden. In die Tabelle wurde noch der theoretisch zu erwartende Feldwert $E(h)$ aufgenommen, wie er sich unter der Annahme eines höhenunabhängigen Vertikalstromes I_0 in der Größe des mittleren kontinentalen Bodenwertes von $2 \cdot 10^{-16}$ A/cm² und der Leitfähigkeit der Luft $\lambda(h)$ nach der Formel $E(h) = I_0/\lambda(h)$ ergibt. Man erhält gegenüber den bisherigen Meßwerten durchweg niedrigere Werte sowohl bei Verwendung der von Gish[5]) aus dem Ionisationsgleichgewicht der Atmosphäre berechneten als auch der von Stergis u. Mitarb.[6]) gemessenen Leitfähigkeit.

Wir konnten unsere luftelektrische Radiosonde[7]) leicht zur Messung kleiner Feldwerte durch Vergrößerung des Abstandes der Kollektoren abwandeln und die Genauigkeit durch eine periodische Umpolung des Meßsystems zur Nullpunktsfestlegung während des Aufstiegs verbessern. Außerdem wurde das Gerät umfassend geprüft, um die Fehlergrenzen genau angeben zu können. Mit einer solchen Sonde wurden bisher sechs Hochaufstiege durchgeführt, deren Resultate in der Tabelle 2 zusammengestellt sind.

Tabelle 2. *Von den Verfassern gemessene Feldwerte E (V/m) und Fehlergrenzen Δ (V/m)*

Höhe über NN	Aufstieg					
	11.12.58	11.2.59	19.3.59	20.3.59	25.9.59	26.10.59
	$E \pm \Delta$	$E \pm \Delta$	$E \pm \Delta$	$E \pm \Delta$	$E \pm \Delta$	$E \pm \Delta$
5 km		12,4 1,7	11 1,5		11,5 1,5	
10 km	3,5 1,2	3,6 0,8	3,0 0,8	2,7 0,5	5,0 1,8	2,8 0,3
15 km	1,7 0,7	2,1 0,6	1,3 0,5	1,2 0,3	2,8 1,3	1,2 0,2
20 km	0,9 0,6	1,3 0,5		0,4 0,2		0,5 0,1
25 km	0,6 0,4					0,3 0,1
32 km						0,2 0,1

Der Mittelwert E aus diesen Feldmessungen ist schließlich noch in Fig. 1 mit dem dazugehörigen Fehler Δ über der Höhe aufgetragen.

Der Vergleich mit der von GISH errechneten funktionellen Abnahme, die durch die erwähnten Leitfähigkeitsmessungen von STERGIS bestätigt worden ist, zeigt eine außerordentlich gute Übereinstimmung mit den von uns experimentell gefundenen Werten bis zur größten Aufstiegshöhe von 32 km.

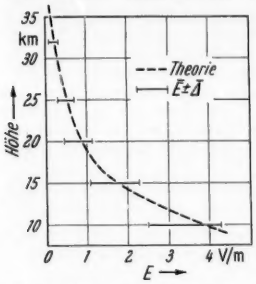


Fig. 1. Von den Verfassern gemessene Mittelwerte und theoretisch zu erwartender Verlauf des luftelektrischen Feldes in der freien Atmosphäre

Die so gewonnene Bestätigung der Konstanz des Vertikalstromes ist eine wesentliche Stütze der Wilsonschen Theorie, nach der ständig durch die Gewittertätigkeit positive Ladungen zur Ionosphäre transportiert werden, wo sie sich in wenigen Minuten über die gesamte Erde verteilen und als vertikaler Schönwetterstrom zum Boden zurückfließen.

Außerdem lassen bereits die vorliegenden Messungen erwarten, daß man sich bei der anfangs erwähnten Ermittlung der Potentialdifferenz zwischen Ionosphäre und Erdoberfläche auf eine Messung des Feldverlaufs bis zur Tropopause beschränken kann, da sich die erwartete Funktion der Abnahme des Feldes in der Stratosphäre bestätigt hat und eine ausreichend genaue Extrapolation ermöglicht.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, mit deren Mitteln die Ballonaufstiege durchgeführt werden konnten, sei schon an dieser Stelle gedankt.

Weissenau, Max-Planck-Institut für Aeronomie, und Tübingen, Universität

R. MÜHLEISEN und H. J. FISCHER

Eingegangen am 9. November 1959

[1]) LUGEON, J., u. M. BOHNENBLUST: Ann. de la Station centrale suisse de Météorologie 1956. — [2]) HATAKEYAMA, H., J. KOBAYASHI, T. KITAOKA u. K. UCHIKAWA: Recent advances in atmospheric electricity. New York: Pergamon Press 1958. — [3]) STERGIS, C. G., G.C. REIN u. T. KANGAS: J. Atm. Terr. Phys. 11, 77 (1957). — [4]) KOENIGSFELD, L.: Thunderstorm electricity. Chicago, Ill.: Chicago University Press 1953. — [5]) GISH, O.H.: Terr. Magn. 49, 159 (1944). — [6]) STERGIS, C.G., et al.: J. Atm. Terr. Phys. 6, 233 (1955). — [7]) MÜHLEISEN, R., u. H.J. FISCHER: ATM V 312—4, Nov. 1958.

Eine neue Methode zum Nachweis des langlebigen radioaktiven Aerosols der Atmosphäre

Die Schwebstoffuntersuchungen des Instituts haben in den letzten Jahren[1]),[2]) zur Entwicklung von Zentrifugalabscheidern für hochdisperse Aerosole geführt, die es gestatten, Aerosole nach Teilchengrößen oder Teilchenmassen geordnet auf zylindrischen oder ebenen Flächen (Glas, Kunststoff-Folien, Papiere oder photographische Filme) zu deponieren (Aerosolspektrometer). Das Gerät wurde erstmals in Zusammenhang mit den von G. SCHOLLMAYER[3]) und H. STRUBE[4]) in den Jahren 1952 bis 1958 durchgeführten Arbeiten zur Abscheidung des radioaktiven Aerosols der Atmosphäre angewendet. Für die hier mitgeteilten Untersuchungen wurde folgende Konstruktion benutzt:

Ein prismatischer Stahlblock von 300 mm Länge ist in Richtung seiner Längsachse auf 18 mm aufgebohrt (Fig. 1). In die Bohrung ist eine Gewindespindel vom gleichen Durchmesser eingepaßt. Die Ganghöhe beträgt 10 mm bei einem Kerndurchmesser von 6 mm. Eine Längsseite des Blocks ist

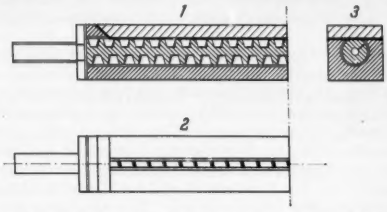


Fig. 1. Schematische Darstellung des Zentrifugalabscheiders (Aerosolspektrometer). *1* Längsschnitt mit Folie und Deckplatte. *2* Aufsicht, Folie und Deckplatte abgenommen. *3* Querschnitt mit Folie und Deckplatte

so weit heruntergefräst, daß die Spindel sichtbar wird und ein etwa 5 mm breiter Schlitz in der Längsrichtung entsteht. An einer der Stirnseiten ist das Ansaugrohr, an der gegenüber-

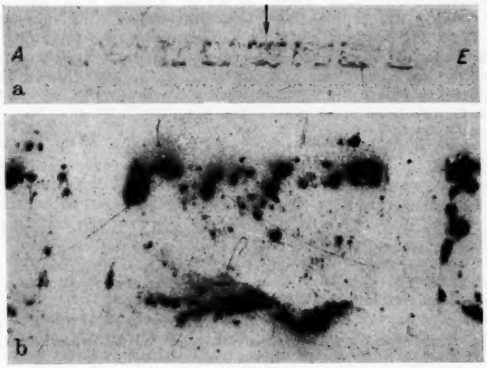


Fig. 2. Autoradiographie einer Depositionsfolie. *a* Gesamtabbildung. — *b* Der mit Pfeil markierte Auschnitt aus 2a

liegenden der Anschlußstutzen zur Pumpe angebracht. Der Längsschlitz an der Blockoberseite wurde durch eine Kunststoff-Folie (Supronyl) abgedeckt. Die Folie wurde auf der der Spindel zugewendeten Seite dünn mit Vaseline bestrichen und durch die Deckplatte auf den Block gepreßt. Damit wurde seitliches Eintreten von Luft beim Ansaugen verhindert.

Die angesaugte Luftmenge bewegt sich längs einer Schraubenbahn von einem mittleren Radius von 0,6 cm. Die während 24 Std durchgesaugte Luftmenge betrug 150 m³. Bei einem Kanalquerschnitt von 0,3 cm² entspricht das einer Geschwindigkeit in der Größenordnung 10^4 cm/sec. Die dabei auftretenden Zentrifugalbeschleunigungen liegen in der Größenordnung von 10^5 g (g: Erdbeschleunigung). Die Zentrifugalkräfte befördern in der Luft enthaltene Staubteilchen nach außen. Die überwiegende Zahl der Partikeln wird bevorzugt auf der Folie abgeschieden und haftet an der Fettschicht.

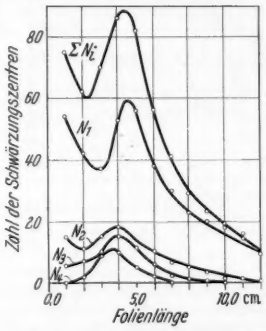


Fig. 3. Statistische Auswertung der Schwärzungszentren Kurven N_1 bis N_4 geben die Zahl der Zentren in Abhängigkeit von der Länge der Depositions-Folie an, die obere Kurve die Gesamtzahl der Zentren. *Ordinate:* Zahl der Schwärzungszentren

Nach 24stündiger Beaufschlagung wurde die Folie aus dem Gerät entfernt und nach einer Wartezeit von 72 Std (Abklingungszeit des kurzlebigen natürlich-radioaktiven Anteils) mit einem Röntgenfilm in Kontakt gebracht und der Film so während 24 Std belichtet (Fig. 2a, b). Der belichtete Film zeigt deutlich Schwärzungszentren verschiedener Größe, die

von Partikelaktivitäten herrühren. Die Teilchendichte ist in der Mitte am größten und nimmt nach der Seite des Lufteintritts (E) und nach der Austrittsseite (A) ab (vgl. auch Fig. 3). Die Strömungskanäle sind deutlich zu erkennen (Fig. 2a).

Bei starker Vergrößerung kann man etwa vier verschiedene Durchmesserklassen der Schwärzungszentren unterscheiden (Fig. 2b; bei der Vergrößerung handelt es sich um das mit Pfeil gekennzeichnete Sektorfeld). Der kleinste Durchmesser wurde willkürlich gleich Eins gesetzt und so die Gesamtheit aller Zentren klassifiziert, ausgezählt und das Ergebnis in Abhängigkeit von der Länge der Depositions-Folie aufgetragen (Fig. 3). N_1 ist der Anteil der Klasse des kleinsten, N_4 der des größten Durchmessers. Die Summenkurve aller Klassen ist durch die Kurve ΣN_i dargestellt. Das Schwärzungsmaximum liegt für alle Klassen bei etwa 5 cm der Folienlängen.

Es handelt sich bei dem abgeschiedenen Aerosol um radioaktive Partikeln von hoher Strahlungsintensität, sog. hot particles, wie sie schon verschiedentlich durch andere Meßmethoden nachgewiesen werden konnten[4]).

Die Größen- bzw. Massenverteilung der heißen Zentren entspricht in groben Zügen auch der Größen- bzw. Massenverteilung des radioaktiven Gesamtaerosols. Eine massenmäßige Bevorzugung einer Teilchengruppe ist bis jetzt nicht erkennbar. Diese Ergebnisse scheinen darauf hinzudeuten, daß die sog. heißen Partikeln sich nicht so sehr durch ihre Größe (Masse) aus dem radioaktiven Aerosol herausheben, sondern durch ihre hohe spezifische Aktivität.

Institut für Angewandte Physik (bisher I. Physikalisches Institut) der Universität, Mainz

H. Klumb und T. Dahlem

Eingegangen am 23. Oktober 1959

[1]) Klumb, H.: Tagungsber. d. Schwebstofftechn. Arbeitsgemeinschaft Mainz 1954. — [2]) Schwendemann, K.: a) Tagungsber. d. Schwebstofftechn. Arbeitsgemeinschaft Mainz 1954; b) Dipl.-Arbeit Mainz 1955. — [3]) Schollmayer, G.: Dipl.-Arbeit Mainz 1957. — [4]) Strube, H.: Dipl.-Arbeit Mainz 1959.

Zur röntgenographischen Früherkennbarkeit des Dauerbruches an Stahlproben

Röntgenrückstrahlaufnahmen an wechselbeanspruchten Metallen ergaben eine Änderung der Gitterdehnungen mit zunehmender Zerrüttung. Während an biegewechselbeanspruchten Stahlproben[1]) die zunehmende Zerrüttung sich in einer deutlichen Abnahme der Gitterdehnungen auswirkte, waren die Effekte bei zug-druckwechselbeanspruchtem Stahl[2]),[3]) nur gering. Die Meßergebnisse[1]),[2]) wurden so gedeutet, daß die gemessenen Oberflächenspannungen am Ort des späteren Anrisses unter den Sollwert absinken. Dabei wurde die Konstanz des Verhältnisses $(1+\nu)/E$ (E Elastizitätsmodul, ν Querkontraktionszahl) vorausgesetzt.

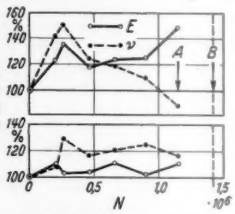


Fig. 1. Abhängigkeit von E und ν von der Lastwechselzahl bei konstanter Amplitude, *oben:* innerhalb, *unten:* außerhalb des Zerrüttungsgebietes

Zur Gewinnung umfassenderer Aussagen über die Vorgänge in den Oberflächenschichten wechselbeanspruchter Metalle erschien es notwendig, als Kenngrößen des Gitterdehnungszustandes den Elastizitätsmodul, die Querkontraktionszahl, die Mehrachsigkeit des örtlich wirksamen Spannungszustandes und die Eigenspannungen einzeln zu bestimmen. Dazu wurde ein kürzlich angegebenes Verfahren[4]) dahingehend erweitert, daß die Gitterdehnungen in verschiedenen Ebenen und Richtungen statisch und dynamisch gemessen werden konnten. Untersucht wurden eigenspannungsfreie Rundstäbe aus Chrom-Molybdän-Stahl. Zur gezielten Festlegung des Zerrüttungsgebietes wurden diese an einer Stelle mit einer sehr flachen kalottenförmigen Vertiefung versehen, in der die röntgenographischen Gitterdehnungsmessungen während der Pausen der Zug-Druck-Wechselbeanspruchung bei mehreren Laststufen unter statischer Zug-Druck-Belastung erfolgte. Der angestrahlte Oberflächenbezirk war kreisförmig und hatte 1 mm Durchmesser. Drei solche Meßbereiche waren in Richtung der Stabachse so aneinander gereiht, daß sich ihre Randpartien teilweise überdeckten.

Die Versuche ergaben keine gesetzmäßige Beziehung zwischen der Ausbildung eines Eigenspannungszustandes und der fortschreitenden Zerrüttung. Ferner konnte weder innerhalb noch außerhalb des Zerrüttungsgebietes eine zunehmende Mehrachsigkeit des örtlich wirksamen Spannungszustandes festgestellt werden. Dagegen zeigten die beobachteten Änderungen von E und ν im Vorstadium des Dauerbruches einen ganz charakteristischen Verlauf. Erfolgen die Messungen unmittelbar im Zerrüttungsgebiet, so laufen die Kurven von E und ν von einer bestimmten Lastwechselzahl an (0,6 Millionen in Fig. 1a) auseinander, wobei ein starker Anstieg von E von einem mehr oder weniger starken Abfallen von ν begleitet ist. Erst bei 1,2 Millionen Lastwechseln (A in Fig. 1a) ließ sich mikroskopisch ein feiner Anriß feststellen. Der Bruch trat erst nach weiteren 0,2 Millionen Lastwechseln (Punkt B in Fig. 1a) ein. Bei Messungen in der Umgebung zeigen die E- und ν-Kurven keinen so kennzeichnenden Verlauf; die in Fig. 1b dargestellten Meßwerte wurden an einer Stelle erhalten, die nur 1,5 mm von dem Meßpunkt der Fig. 1a entfernt war. Daraus folgt, daß das Zerrüttungsgebiet vor Auftreten eines mikroskopisch sichtbaren Anrisses sehr eng begrenzt ist. An mehreren Stäben durchgeführte Versuche bestätigten den in Fig. 1a und 1b dargestellten grundsätzlichen Befund.

Während bei den früheren Untersuchungen die beobachteten Effekte nicht nur im Endstadium der Zerrüttung auftraten, handelt es sich bei dem in Fig. 1a dargestellten Auseinanderlaufen der Kurven für E und für ν um eine Erscheinung, die bei den untersuchten Stahlproben ein eindeutiges Kriterium für das spätere Auftreten eines Anrisses am Meßort lieferte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung der Arbeit.

Röntgeninstitut der Technischen Hochschule, Stuttgart, und Institut für Metallphysik am Max-Planck-Institut für Metallforschung, Stuttgart

R. Glocker, E. Macherauch und P. Müller

Eingegangen am 3. November 1959

[1]) Glocker, R., W. Lutz u. O. Schaaber: Z. Ver. Dtsch. Ing. **85**, 793 (1941). — [2]) Schaal, A.: Z. Metallkunde **36**, 153 (1944). — [3]) Binder, F.: Diss. T.H. Stuttgart 1956. — [4]) Macherauch, E., u. P. Müller: Arch. Eisenhüttenwes. **29**, 257 (1958).

Zur Optik und Struktur des Whewellits

An sehr gut ausgebildeten Whewellit-Kristallen, $Ca(C_2O_4) \cdot H_2O$, von Burgk bei Dresden werden Untersuchungen über Optik und Struktur durchgeführt. In Übereinstimmung mit dem von Becke[1]) angegebenen morphologischen Achsenverhältnis des monoklinen Minerals ergaben sich $a:b:c = 0{,}8626:1:1{,}3673$ und der Winkel $\beta = 107°\,1{,}5'$.

Nach der Triangelmethode[2]), die es gestattet, neben der Dispersion der Brechungsexponenten auch die Dispersion der Orientierung der Indikatrix in einem Meßgang mit großer Genauigkeit zu bestimmen, wurden die Hauptbrechungsexponenten n_X, n_Y, n_Z, die Auslöschungsschiefe $\Phi = Z \wedge c$ und der optische Achsenwinkel $2V$ in Abhängigkeit von der Wellenlänge bei 24° C ermittelt.

λ [nm]	n_X	n_Y	n_Z	$2V$	Φ
404,7 Hg	$1{,}5049_0$	$1{,}5781_2$	$1{,}6791_3$	85°29′	28°58′
435,8 Hg	$1{,}5012_7$	$1{,}5722_0$	$1{,}6714_5$	85°0′	29°10′
491,6 Hg	$1{,}4964_2$	$1{,}5646_8$	$1{,}6614_2$	84°30′	29°27′
546,1 Hg	$1{,}4931_3$	$1{,}5593_9$	$1{,}6547_0$	84°0′	29°42′
579,1 Hg	$1{,}4915_7$	$1{,}5570_3$	$1{,}6514_1$	83°54′	29°47′
589,3 Na_m	$1{,}4911_1$	$1{,}5564_3$	$1{,}6505_2$	83°55′	29°49′
623,4 Hg	$1{,}4898_6$	$1{,}5543_7$	$1{,}6479_0$	83°40′	29°54′
690,8 Hg	$1{,}4878_5$	$1{,}5514_3$	$1{,}6437_4$	83°37′	30°2′

Bei normalsymmetrischer Achsenlage sind $n(\text{rot}) < n(\text{violett})$, $\Phi(\text{rot}) > \Phi(\text{violett})$ und $2V(\text{rot}) < 2V(\text{violett})$. Die Kristallklasse $C_{2h} - 2/m$ wurde durch Ätzversuche bestätigt. Im Rahmen der Strukturbestimmung führten Drehkristall-, Äquator-Weissenberg- und equi-inclination-Weissenberg-Aufnahmen um [001] mit CuK_α-Strahlung zu der Raumgruppe $C_{2h}^1 - P2/m$. Drehkristall- und Zählrohrgoniometer-Pulver-Aufnahmen mit CuK_α-Strahlung ergaben die Gitterkonstanten: $a_0 = 6{,}29_3$ Å, $b_0 = 14{,}59_1$ Å, $c_0 = 9{,}97_5$ Å. Entsprechend dem Verhältnis $a_0:b_0:c_0 = a/2:b:c/2$ ist die gebräuchliche Flächenindizierung abzuändern. Die auf Grund der Gitter-

konstanten berechnete röntgenographische Dichte $\varrho_r = 2{,}215$ g/cm³ stimmt mit der nach der Schwebemethode in Thouletscher Lösung bestimmten Dichte $\varrho_s = 2{,}216$ g/cm³ innerhalb der Fehlergrenzen überein. Die Anzahl der Formeleinheiten in der Elementarzelle beträgt $Z = 8$.

Die Strukturbestimmung wird nach der Patterson- und Fourier-Synthese weitergeführt.

Mineralogisch-Petrographisches Institut der Universität, Hamburg

W. HOFFMANN

Eingegangen am 7. November 1959

[1]) BECKE, F.: Min. Mitt. 26, 391 (1907). — [2]) RATH, R.: Hamburger Beitr. z. Angew. Min. u. Krist.-Physik, I. F. 1956, S. 285.

Molecular Weight of Mycobacillin by Diffusion Method

Diffusion method has been used by several workers to calculate the molecular weight of various biologically active substances including some polypeptide antibiotics[1]),[2]). The present communication deals with the determination of the molecular weight of mycobacillin, an antifungal polypeptide antibiotic[3]) by the diffusion method.

According to EINSTEIN[4]), the diffusion coefficient D is related to the radius of the particle by the following equation

$$D = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi r \eta}, \qquad (1)$$

where r represents the radius of the hydrated particle, η the coefficient of viscosity, T the absolute temperature, R the gas constant and N the Avogrado number. The molecular weight is then calculated by using the equation

$$M = \frac{4}{3} \pi r^3 N \cdot \varrho \qquad (2)$$

(ϱ = density of the substance).

Now the method to determine the diffusion constant consists in measuring the amount of substance that diffuses across a membrane in a given period of time using the equation

$$D = K \cdot Q/t \ \text{(cm.}^2\text{/day)}, \qquad (3)$$

where Q is the number of cc. of the concentrated solution containing the amount of substance, which diffuses in t days; the membrane constant K is the ratio of the thickness of the membrane to its effective area.

The membrane constant was experimentally determined by allowing standard solutions of pure sodium chloride (whose diffusion coefficient is known) to diffuse through the sintered glass membrane for a given period of time at 5° C. The arrangement of the apparatus used for the measurement of the rate of diffusion was similar to that used by DE[5]). 5 cc. of N NaCl solution were placed in the inner tubes and 30 cc. of glass distilled water were placed in the outer beaker. The results are shown in Table 1.

Table 1. *Membrane constant (K) at 5° C*

Time (hours)	3	6	12
Vol. of N NaCl diffused out (cc.)	0·58	1·16	2·22
Q (cc.) per day	4·64	4·64	4·44
Q (cc.) per day, average		4·57	

The value of the diffusion coefficient D for N NaCl solution at 5° C. is found by extrapolation of ÖHOLM's data[6]) to be 0·72 cm.² per day. The membrane constant K is calculated as 0·158 by putting values of D and Q (cc) in equation (3).

The diffusion constant of mycobacillin was next determined. For this purpose, 5 cc. of 1·0% mycobacillin solution in 50% (v/v) aqueous ethanol were put inside the tube and the diffusion experiment was carried out at 5° C. in the same way as referred to above. The amounts of the antibiotic which diffused out were estimated by determining its antifungal activity. Results are represented in Table 2.

The density (ϱ) of mycobacillin was determined in a separate experiment by the displacement of xylene at 5° C. and was found to be 1·08 (g/cc.).

The diffusion coefficient of mycobacillin is calculated as 0·133 cm.² per day by substituting the values of K and Q cc. in equation (3) while the radius of particle is calculated to be $8{\cdot}65 \times 10^{-8}$ cm. using equation (1). Now, the molecular weight

Table 2. *Diffusion rate of mycobacillin at 5° C*

Time (hours)	6	12	24
Vol. of mycobacillin sn. diff. out (cc.)	0·21	0·41	0·84
Q (cc.) per day	0·84	0·82	0·84
Q (cc.) per day, average		0·84	

of mycobacillin is calculated by putting the values of r, ϱ, π and N in equation (2) and is found to be 1775 (approximately).

The author is grateful to Dr. S. K. BOSE and Prof. B. C. GUHA for their kind advice and interest in this work and to the Council of Scientific and Industrial Research for the grant of a Fellowship.

Department of Applied Chemistry, University College of Science and Technology, Calcutta

S. K. MAJUMDAR

Eingegangen am 11. November 1959

[1]) PEDERSON, K. O., and R. L. M. SYNGE: Acta chem. scand. 2, 408 (1948). — [2]) OGSTON, A. G.: Biochemic. J. 51, 569 (1952). — [3]) MAJUMDAR, S. K., and S. K. BOSE: Nature [London] 181, 134 (1958). — [4]) EINSTEIN, A.: Z. Elektrochem. 14, 235 (1908). — [5]) DE, S. S.: J. Indian Chem. Soc. 21, 308 (1944). — [6]) ÖHOLM, L. W.: Z. physik. Chem. 70, 378 (1910).

Über die Trennung und Identifizierung 2′-3′-zyklischer Nukleotide durch Papierchromatographie

Wir haben früher berichtet[1]), daß ein Lösungsmittel aus 9,6 g $(NH_4)_2CO_3$, 250 ml Wasser und 750 ml Isopropanol sehr leicht die papierchromatographische Trennung von Adenosin-2′-3′-zyklophosphat, Cytidin-2′-3′-zyklophosphat und Uridin-2′-3′-zyklophosphat gestattet. Inzwischen haben wir das Guanosin-2′-3′-zyklophosphat in den Abbauprodukten aufgefunden, die wir aus Hefe-Ribonukleinsäure nach Einwirkung der RNase von Phaseolus aureus bekommen haben; dadurch waren wir jetzt imstande, es mit den anderen zyklischen Nukleotiden zu vergleichen. Guanosin-2′-3′-zyklophosphat wandert langsamer als die drei schon untersuchten zyklischen Nukleotide, so daß das erwähnte Solvenzsystem eine vollständige Trennung und Identifizierung aller vier 2′-3′-zyklischen Nukleotide in Mengen von ungefähr je 10 γ ermöglicht. Wenn die Laufgeschwindigkeit von Adenosin-2′-3′-zyklophosphat = 100 gesetzt wird, so sind die Laufgeschwindigkeiten 84 für Uridin-2′-3′-zyklophosphat, 75 für Cytidin-2′-3′-zyklophosphat und 64 für Guanosin-2′-3′-zyklophosphat. Die Laufgeschwindigkeit der normalen 2′- und 3′-Nukleotide ist erheblich niedriger (9 bis 20). Eine Laufzeit von mindestens 60 Std ist unbedingt erforderlich.

Wir danken Professor Dr. L. VANDENDRIESSCHE ergebenst für sein Interesse und Hilfe.

Laboratorium voor fysiologische Scheikunde. Rijksuniversiteit Gent (Belgien)

J. STOCKX und R. VAN PARIJS

Eingegangen am 13. November 1959

[1]) STOCKX, J.: Naturwiss. 23, 570 (1958).

Eine neue Darstellungsmethode für Trialkyloxoniumsalze

Die Eignung tertiärer Thiophosphorsäureester als Alkylierungsmittel gegenüber Aminen, Thioäthern, Thioharnstoff und anorganischen Anionen haben wir früher[1]) beschrieben. In der Reihe der Trialkylthionophosphate nimmt das Alkylierungspotential vom Trimethyl- zum Triäthylester allerdings bereits so stark ab, das letzterer unter den bisher angewendeten Bedingungen keine präparative Bedeutung mehr besitzt.

Die alkylierenden Eigenschaften solcher Trialkylthionophosphate lassen sich jedoch, wie wir fanden, ganz außerordentlich steigern, wenn durch Anwendung geeigneter Lewis-Säuren als Elektronenakzeptoren die Esterbindungen genügend stark polarisiert werden. So ist z. B. das System Triäthylthionophosphat-$SbCl_5$ ein derart starkes Alkylierungsmittel, daß wir damit sogar Äther in praktisch quantitativer Ausbeute, bezogen auf die unten angegebene Formulierung, zum Triäthyloxoniumhexachloroantimonat alkylieren konnten. Diese Reaktion läßt sich auch auf höhere Alkylester anwenden. Sie stellt damit eine neue einfache präparative Methode zur Darstellung auch solcher Trialkyloxoniumsalze dar, die nach den bekannten Methoden nicht oder nur in schlechten Ausbeuten zugänglich sind. Das bisher nur von KLAGES[2]) auf dem Umwege über das Dibutyloxoniumsalz

mit 33%iger Ausbeute dargestellte Tri-n-butyloxoniumhexachloroantimonat beispielsweise konnte so durch direkte Alkylierung des Dibutyläthers in 63%iger Ausbeute erhalten werden.

Die Ausführung der Reaktion ist denkbar einfach: Zu der Lösung von 1 Mol Ester im Überschuß des jeweiligen Äthers werden unter Feuchtigkeitsausschluß und Abfangen der auftretenden Wärmetönung 2 Mol $SbCl_5$ zugetropft, wobei das Oxoniumsalz, gegebenenfalls nach vorherigem Kühlen, ausfällt und nach kurzem Stehenlassen abgesaugt werden kann.

Auch gemischte Oxoniumsalze, wie das noch nicht beschriebene Diäthyl-n-propyloxoniumhexachloroantimonat, Schmp. 112 bis 114°, lassen sich so in guter Ausbeute darstellen, wenn man zur Vermeidung von Austauschreaktionen nicht den Äther selbst, sondern ein inertes Solvens wie Chloroform als Lösungsmittel verwendet.

Wir nehmen an, daß die Oxoniumsalzbildung über ein Addukt $(RO)_3PS \rightarrow SbCl_5$ erfolgt, das als „aktiviertes Thiophosphat" mit stark gelockerten R—O-Bindungen in Gegenwart einer zweiten Molekel $SbCl_5$ ein Alkylkation auf den Äther überträgt und dabei durch den energieliefernden Vorgang der Ausbildung eines Hexachloroantimonat-Ions unterstützt wird.

$$(RO)_3PS \rightarrow SbCl_5 + R'_2O + SbCl_5 \longrightarrow (\overset{\oplus}{R_2OR})\overset{\ominus}{SbCl_6} + (RO)_2P(O)SSbCl_4.$$

Eine ganz analoge Formulierung hat MEERWEIN für die Umsetzung von Orthoameisensäureäthylester mit $SbCl_5$-Ätherat angegeben[3]).

Schwefel-Koordination in Thionophosphat-Komplexen wurde bisher noch nicht beobachtet, während für die entsprechende Sauerstoffkoordination zwischen dem stärker polaren Phosphoryl-Sauerstoff und einer ganzen Reihe von Lewis-Säuren zahlreiche Beispiele bekannt sind. Versuche zur Darstellung dieser offenbar sehr labilen Thiophosphat-Addukte und zur Charakterisierung der phosphorhaltigen Reaktionsprodukte, die möglicherweise weiteren Folgereaktionen unterliegen, sind im Gange. Darüber und über weitere Einzelheiten sowie über analoge, präparativ allerdings zum Teil weniger gut verwertbare Bildungsweisen von Oxoniumsalzen aus Phosphor- und Chlorphosphorsäureestern werden wir an anderer Stelle berichten.

Institut für organische Chemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Adlershof

HERBERT TEICHMANN und GÜNTER HILGETAG

Eingegangen am 13. November 1959

[1]) HILGETAG, G., u. H. TEICHMANN: J. prakt. Chem. (4) **8**, 90, 97, 104 (1959). — HILGETAG, G., G. LEHMANN, A. MARTINI, G. SCHRAMM u. H. TEICHMANN: J. prakt. Chem. (4) **8**, 207 (1959). — [2]) KLAGES, F., u. H. MEURESCH: Chem. Ber. **86**, 1322 (1953). — [3]) MEERWEIN, H.: Angew. Chem. **67**, 374 (1955).

Incorporation of Tritium in Unsaturated Steroids: Pregnenolone-7α-H^3 and Progesterone-7α-H^3 of very high Specific Activity

The differences and advantages of tritium versus carbon-14 labelling have already been described[1]). Recent publications[2]) on the application of the Wilzbach procedure[3]) to unsaturated steroids cast a serious doubt on its usefulness for the incorporation of tritium into unsaturated steroids. The method described below does not give rise to any tritium additions on the double bond[2]),[4]), probably due to the much shorter exposure time and to the presence of a large amount of solvent.

7α-Bromopregnenolone acetate[5]) was reduced with carrier-free tritium. After the usual work-up, equilibration, and chromatography, the pure pregnenolone was subjected to an Oppenauer oxidation which was worked-up in a slightly modified fashion especially suited for small amounts of highly radioactive compounds. The loss in specific radioactivity incurred by the oxidation of pregnenolone amounted to 25%.

In this fashion, 110 C of carrier-free tritium were used for the preparation of 174 mg. progesterone with a specific activity of 31 mC/mg. The exchange of the solvent with tritium is noteworthy, since a calculation $\left(\frac{22 \cdot 4 \times 2 \cdot 6 \cdot 10^3}{315 \times 2} = 92{,}5 \text{ mC/mg.}\right)$ shows that the obtained product contained only 1/3rd of the calculated activity. A report on the direct production of 7α-tritiated 3 keto-Δ^4-steroid by tritiation of their 7α-bromo-3-keto-Δ^5-3-ethylene ketal derivatives will be published in a separate communication.

Experimental. A Packard Tri-Carb liquid scintillation spectrometer was used for radioanalysis (S.E. ≏ 5%).

7α-Bromo-3β-hydroxypregn-5-en-20-one Acetate. This compound was prepared exactly as described[5]) and the crude reaction product washed ten times with small amounts of petroleum ether, dried, and used within 18 hrs.

3β-Hydroxypregn-5-en-20-one-7α-H^3. To a 50 ml. 2-neck flask, one neck equipped with a break-seal, containing a suspension of 1·0 g. of 5% palladium-on-calcium carbonate in 11 ml. ethyl acetate, 500 mg. of 7α-bromo-3β-hydroxypregn-5-en-20-one acetate were added and then 40 ml. of tritium (~100 C) were introduced with the help of a Toepler pump while the flask was cooled with liquid nitrogen. After sealing the flask off, it was shaken for $1^1/_2$ hours. Then the flask was connected to the line, frozen, the break-seal broken and the excess tritium toeplered out. The mixture was filtered, the solvent evaporated and the residue equilibrated with a 1% methanolic potassium hydroxide solution. The equilibrated product was purified on an absorption-type silica gel column, the fractions with 10% ethyl acetate in benzene furnished 210 mg. pregnenolone-7α-H^3 with an activity of 9·03 C, m.p. 186 to 190°.

Progesterone-7α-H^3. 3β-Hydroxypregn-5-en-20-one-7α-H^3 (240 mg., 9·6 C) was oxidized with 10 ml. cyclohexanone and 250 mg. aluminium isopropoxide under the usual Oppenauer conditions. After adding 2 ml. of a saturated sodium sulfate solution the mixture was left overnight, then anhydrous sodium sulfate was added and the crude product chromatographed on a silica gel column. The benzene eluates contained practically all the cyclohexanone and cyclohexanol of the reaction mixture. The eluate with 10% ethyl acetate in benzene furnished 191 mg. crude progesterone which was rechromatographed on a celite column with the solvent system methanol-water (4:1, v/v) petroleum ether. The fractions 7 to 18 furnished 174 mg. of progesterone-7α-H^3, m.p. 119 to 121° and an ultraviolet maximum $\varepsilon_{240\,m\mu}^{EtOH}$ 16,000. The specific activity was 31 mC/mg. The fractions 1 to 7 contained less than 5% of the total radioactivity of progesterone[6]).

Supported, in part, by a grant -USPHS-A-3419.

Department of Organic Chemistry. The Worcester Foundation for Experimental Biology, Shrewsbury, Mass.

MARCEL GUT and MILAN USKOKOVIĆ

Eingegangen am 17. November 1959

[1]) SINEX, F.M.: Proc. Symposium on Tritium in Tracer Application, New York, New York, November, 1957, p. 1. — [2]) BRADLOW, H.L., D.K. FUKUSHIMA and T.F. GALLAGHER: Atomlight, September, 1959. — [3]) WILZBACH, K.E.: J. Amer. Chem. Soc. **79**, 1013, (1957). — [4]) DUTTON, H.J., and R.F. NYSTROM: Proc. Symposium on Tritium in Tracer Application, New York, New York, October, 1958, p. 8. — [5]) ANTONUCCI, R., S. BERNSTEIN, D. GIANCOLA and K.J. SAX: J. Org. Chemistry **16**, 1126 (1951). — [6]) Therefore, if the Oppenauer oxidation product would have contained any 5α-pregnane-3,20-dione (arising from tritium addition on the Δ^5-double bond) at all, then it could not have amounted to more than 5%

Über die Farbstoffe der schwarzen Holunderbeere

Vor einiger Zeit berichteten wir[1]), daß das Glycosid der schwarzen Holunderbeere, das Sambucicyanin, als Biosekomponente wahrscheinlich Primverose enthält. In der Zwischenzeit glückte uns die Synthese des β-3-Cyanidinprimverosids. Der papierographische Vergleich des synthetischen Farbstoffs mit dem natürlichen Farbstoff ergab aber, daß das Sambucicyanin kein Primverosid ist. Ferner gelang uns auch der Aufbau des Isoprimverosids, aber auch dieses ist mit dem Sambucicyanin nicht identisch. Zur weiteren Konstitutionsaufklärung methylierten wir den Farbstoff. Die Säurehydrolyse des methylierten Produkts lieferte partiell methylierte Zucker mit den R_f-Werten 0,84 und 0,74 (Schleicher und Schüll 2043b m; Butanol:Eisessig:Wasser 4:1:5 organische Phase; Entwickler: Anilinphthalat). Durch Mischchromatogramme mit synthetisch hergestellten methylierten Zuckern konnte der Zuckerbestandteil mit dem R_f-Wert 0,84 als 2,3,4-Tri-methylxylose identifiziert werden. Beim anderen Spaltstück konnte wegen gleicher R_f-Werte papierchromatographisch nicht entschieden werden, ob eine 2,4,6-Trimethylglucose (R_f 0,78) oder eine 2,3,6-Trimethylglucose (R_f 0,78) vorliegt. Lediglich aus den charakteristischen Farbreaktionen der partiell methylierten Zucker mit Anilinphthalat (rotbraun für 2,4,6-Trimethylglucose, dunkelbraun für 3,4,6-Trimethyl-

glucose) kann man Schlüsse ziehen. Da der partiell methylierte Zucker aus dem Sambucicyanin dunkelbraune Flecke liefert, ist es äußerst wahrscheinlich, daß das zweite Hydrolysenprodukt die 3,4,6-Trimethylglucose ist. Daraus ergibt sich, daß als Biosekomponente die 2-(Xylosido)-β-D-glucose vorliegen würde. Für diesen neuen Zucker wird die Bezeichnung Sambubiose vorgeschlagen. Das Sambucicyanin würde demnach ein β-3-Cyanidin-sambubiosid sein.

Die näheren Einzelheiten werden an anderer Stelle veröffentlicht.

Institut für Chemie an der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin (Direktor: Prof. Dr. L. Reichel)

Ludwig Reichel und Werner Reichwald

Eingegangen am 10. Oktober 1959

[1]) Reichel, L., H.-H. Stroh u. W. Reichwald: Naturwiss. **44**, 468 (1957).

Die therapeutische Breite von verschiedenen β-bromallylsubstituierten Barbitursäure-Derivaten im Tierexperiment

Nach Hauschild[1]) stehen unter genormten Versuchsbedingungen an einem uniformen Tiermaterial durchgeführte vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit verschiedener Barbiturate noch aus. Dies hat unter anderem Frey[2]) zu interessanten Untersuchungen veranlaßt, die wir in anderer Richtung ergänzen wollen. So beschäftigt sich unsere Mitteilung mit dem therapeutischen Index verschiedener Barbitursäure-Derivate im Tierexperiment im Vergleich zur Phenyläthylbarbitursäure (Phenobarbital). Therapeutisch werden seit vielen Jahren β-bromallyl-substituierte Barbitursäure-Derivate verwendet, so z.B. β-Bromallyl-isopropylbarbitursäure (Propallylonal), β-Bromallyl-sek. butyl-barbitursäure (Butallylonal) und β-Bromallyl-sek. amyl-barbitursäure. Halberkann und Reiche[3]) sowie Ludwig[4]) beschäftigten sich in Publikationen mit Abbau und Ausscheidung derselben, Fitch und Tatum[5]) haben unter anderem die Toxizität derartiger Verbindungen untersucht.

Wir bestimmten an weißen Mäusen im Gewicht von etwa 20 g bei oraler Applikation der Versuchssubstanzen durch Schlundsonde die Toxizität und Wirkung derselben, wobei wir als Maß für die letztere einerseits die von Frey[2]) vorgeschlagene 5 min ED_{50} der Seitenlage, andererseits die von Gross, Tripod und Meier[6]) angewandte Drehstabmethode wählten. Die Substanzen wurden in 1%iger Traganth-Lösung mit dem Ultra-Turrax emulgiert, die Dosenstaffelung erfolgte nach dem Weber-Fechnerschen Gesetz. Die statistische Auswertung erfolgte sowohl für die Toxizität als auch für die Wirkung nach Litchfield und Wilcoxon[7]), die Bestimmung des therapeutischen Indexes (Ehrlich-Index) wurde nach einem Vorschlag von Brock und Geks[8]) vorgenommen (s. Tabelle).

Tabelle. *Der therapeutische Index (E.I.), ermittelt aus Seitenlage und Toxizität (I) bzw. nach der Drehstabmethode und der Toxizität (II)*

	DL_{50} ($f_{DL_{50}}$)		DL_5		ED_{50} ($f_{ED_{50}}$)		ED_{95}		E.I. (DL_5: ED_{95})	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Phenyläthyl-barbitursäure (Phenobarbital)	175 (1,17)	180 (1,42)	120	120	95 (1,46)	29 (1,38)	137	67	0,88	1,8
β-Bromallyl-iso-propylbarbitursäure (Propallylonal)	340 (1,22)	350 (1,37)	217	230	88 (1,32)	25 (1,25)	162	48	1,34	4,8
β-Bromallyl-sek. butylbarbitursäure (Butallylonal)	282 (1,18)	280 (1,52)	225	200	69 (1,22)	19 (1,26)	108	38	2,08	5,3
β-Bromallyl-sek. amylbarbitursäure	410 (1,16)	410 (1,65)	220	217	107 (1,15)	36 (1,32)	142	75	1,55	2,9

Wie die Ergebnisse zeigen, besitzen die β-bromallyl-substituierten Barbitursäure-Derivate im Tierexperiment, nach zwei Methoden getestet, einen günstigeren therapeutischen Index (E. I.) als Phenyläthylbarbitursäure (Phenobarbital).

Pharmakologisches Laboratorium der Riedel-de Haën AG., Berlin-Britz

Gerhard Bauer

Eingegangen am 28. November 1959

[1]) Hauschild, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie. Leipzig: VEB Georg Thieme 1956. — [2]) Frey, H.-H., F. Sudendey u. D. Krause: Arzneimittel-Forsch. **9**, 294 (1959). — [3]) Halberkann, J., u. F. Reiche: Münch. med. Wschr. **1927**, 1450. — [4]) Ludwig, H.: Ärztl. Praxis **6** (15), 7 (1954). — [5]) Fitch, u. Tatum: J. Pharmacol. exp. Therapeut. **44**, No 3, 325 (1932). — [6]) Gross, F., J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **85**, 305 (1955). — [7]) Litchfield, J.T., u. F. Wilcoxon: J. Pharmacol. exp. Therapeut. **96**, 99 (1949). — [8]) Brock, N., u. F. J. Geks: Arzneimittel-Forsch. **1**, 63 (1951).

Über die Farbstoffe der schwarzen Johannisbeere

G.M. Robinson und R. Robinson[1]) isolierten aus der schwarzen Johannisbeere (ribes nigrum L.) ein Cyanidin-3-biosid. Dieses Glycosid lieferte bei der Hydrolyse neben Cyanidin, Glucose, Spuren von Delphinidin. Nach papierchromatographischen Untersuchungen von A. Fouassin[2]) besteht der Farbstoff aus 2 Glycosiden des Cyanidins und 2 Glycosiden des Delphinidins. B.V. Chandler und K.A. Harper[3]) stellten durch Verteilungschromatographie an Cellulosepulversäulen fest, daß der Rohfarbstoff ein Gemisch aus 6 Farbstoffen darstellt. Letztere identifizierten sie als Delphinidin, 2 Delphinidinglucoside, Cyanidin, Chrysanthemin und ein Cyanidinbiosid unbekannter Struktur. Als Zuckerbestandteil fanden sie ausschließlich Glucose.

Wir gewannen den Rohfarbstoff über das Bleisalz, und durch zweidimensionale Papierchromatographie wurden 4 Farbstoffe festgelegt, von welchen einer jedoch nur in sehr geringen Mengen vorhanden war. Durch Verteilungschromatographie an Cellulosepulversäulen und Entwicklung mit 0,25%iger Ameisensäure konnten wir den Farbstoff in 2 Fraktionen (I und II) auftrennen. Die erste Fraktion war papierchromatographisch nicht einheitlich, und es erfolgte deshalb die weitere Auftrennung auf Papierbögen (Schleicher und Schüll 2043b m, Butanol: Eisessig: Wasser 4:1:5 organische Phase). Dabei fielen 2 Fraktionen, und zwar 1a und 1b, an.

I. Fraktion: 1a) wurde der Säurehydrolyse unterworfen und sodann papierchromatographisch untersucht. Dabei gingen hervor: Cyanidin, Glucose und Rhamnose (β-3-Cyanidin-rutinosid). Das Cyanidin identifizierten wir durch Mischchromatogramme mit synthetisch dargestelltem Cyanidin, die Zucker ebenfalls durch Mischchromatogramme mit D-Glucose und L-Rhamnose.

1b) entsprechend. Es konnten Delphinidin, Glucose und Rhamnose nachgewiesen werden (β-3-Delphinidin-rutinosid).

II. Fraktion: Diese war papierchromatographisch einheitlich. Säurehydrolyse und Identifizierung der Komponenten wie unter I. Es gingen hervor: Delphinidin und Glucose. Das β-3-Cyanidin-rutinosid und das β-3-Delphinidin-rutinosid dürften die pharmakologisch wichtigen Wirkungskomponenten (Vitamin-P-Wirksamkeit) der schwarzen Johannisbeere sein.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Institut für Chemie an der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin (Direktor: Prof. Dr. L. Reichel)

Ludwig Reichel und Werner Reichwald

Eingegangen am 10. Oktober 1959

[1]) Robinson, G.M., u. R. Robinson: Biochemic. J. **25**, 1687 (1931). — [2]) Fouassin, A.: Rev. Ferment. **11**, 173 (1956). — [3]) Chandler, B.V., u. K.A. Harper: Nature [London] **182**, 181 (1958).

Studies on Active Carbon: I. Preparation of Active Carbon from Kodra-Husks using $ZnCl_2$ as an Activator

In view of the multifarious use of active carbon in industry, the present investigation was undertaken to prepare active carbon from indigenous raw material i.e. Kodra-(*Paspalum scrobiculatum* L.)-husks, as this raw material is abundantly available in Gujarat, one of the provinces of India. Kodra is one of the chief and cheap food materials amongst the backward-class. Hence the huge volume of husks available in Gujarat has suggested its utilization for preparation of active carbon. The husks have no other industrial utility.

The husks were obtained from fresh corn. They were cleaned and washed with water several times to remove dust and other impurities and dried in the sun; care was taken against contamination with dust. The sun-dried husks were ground thoroughly in a hand mill and sieved through 25-mesh-gauze to prepare sample with uniform silica-content. The material gave the following results on analysis: *Moisture:* 2·1; *Ash-content:* 7·95; Lignin[1]),[2]): 20·21%.

In order to investigate the effect of $ZnCl_2$ activator and temperatures on the preparation of the active carbon the following different treatments have been tried so far for the present investigation: (i) Treatment of the raw material directly with activating agent followed by carbonization. — (ii) Treatment of the raw material directly with activating agent followed by carbonization and further treatment with strong alkali. — (iii) Treatment of the raw-carbon produced after carbonization with strong alkali. — (iv) Treatment of the raw material with strong alkali first and then with activating agent, followed by carbonization. — (v) Treatment of the raw material with distilled water only and followed by carbonization.

The chemically treated husks were carbonized at various temperatures viz: 350, 425, and 500° C by heating in a muffle-furnace. The desired temperature was maintained steady for four hours in case of each set of experiments. The mass after carbonization was cooled also in the furnace; then it was given 10% hot HCl treatment followed by hot distilled water treatment to make it free of activator and chloride ions, dried at 102° C in an electric oven for one hour and sieved to 200 mesh-sieve. The 200 mesh-sieved activated carbon samples were tested for their (1) yield, (2) ash-content, (3) bulk-density and (4) for their adsorptive capacity with (a) 0·04% solution of methylene blue, (b) N/10 solution of iodine, (c) N/10 solution of $KMnO_4$, (d) N/10 solutions of oxalic, acetic, propionic and butyric acids.

The methods adopted for the adsorptive capacity were those adopted by one of the authors[3]).

In case of all the obove treatments, the results of the present investigation showed that the optimum yield and activity are attained with 40% concentration of the activator $ZnCl_2$ at 425° C as the temperature of activation. The yield being: 51·5%; ash-content: 4·37 and bulk-density: 0·617.

The adsorptive capacities for the sample obtained with optimum conditions (40% $ZnCl_2$, 425° C) are as follows (in mg/g):

methylene-blue . .	488·6	acetic acid	57·0
iodine	1269·2	propionic acid . . .	107·3
$KMNO_4$	751·0	butyric acid	193·6
oxalic acid	59·8		

In absence of activator the yield is comparatively poor. The ash-content also has been found to be appreciably lower when $ZnCl_2$ has been used. The treatment with alkali preceding carbonization is found to be more effective both for the lowering of ash-content and adsorptive capacity. The temperature of activation has a specific effect on the activity of the products. The different conditions for preparing a good grade active carbon has been established. The details of the treatments and results of the above investigation will be published elsewhere.

The author's thanks are due to the Charutar Vidya-Mandal for financial aid and providing facilities to work.

Department of Chemistry, Sardar Vallabhbhai Vidyapeeth, Vallabh-Vidyanagar, via: Anand (India)

K.C. Patel, M.D. Avasare, B.N. Mankad, and R.D. Patel

Eingegangen am 31. Oktober 1959

[1]) Norman, A.G., and S.H. Jenkins: Biochemic. J. **28**, 2147 (1934). — [2]) Chattopadyay, H., and P.B. Sarkar: Proc. Nat. Inst. Sci. India **12**, 23 (1946). — [3]) Patel, K.C., et al.: Private communication.

Auftrennung der „alkalischen Phosphatase" aus Leber in zwei Enzyme mit der Lokalisation im Zellkern sowie in den Mikrosomen bzw. in den Mitochondrien. Charakterisierung der beiden Enzyme in einigen ihrer Haupteigenschaften

Wenn man von der feineren Charakterisierung der „alkalischen Organ-Phosphatase", wie sie durch die Differenzierung in isodyname Enzymindividuen (*lyo-*, *desmo*-Enzyme) gegeben ist[1]), absieht, so gilt sie heute als ein einheitliches Enzym. Dies trifft indes nicht zu. Vielmehr kommt die Wirkung, die durch die Phosphatase der Leber im alkalischen Gebiete hervorgerufen wird, durch mindestens zwei getrennte Phosphatasen zustande.

Ein Merkmal dieser beiden Enzyme ist die verschiedene Lokalisation an Zellbestandteilen, wobei die eine Phosphatase im *Zellkern*, die andere in den *Mikrosomen* bzw. *Mitochondrien* verankert ist. Eine Auftrennung der Zellbestandteile führt gleichzeitig zu einer Trennung der Einzelenzyme. Das am Zellkern verankerte Enzym weist ein Wirkungsoptimum bei $p_H = 9.8$, das in den Mikrosomen bzw. Mitochondrien verhaftete ein solches bei $p_H = 9.2$ auf (Fig. 1).

Eine weitere Unterscheidung der beiden Phosphatasen ist in ihrem Verhalten gegenüber Magnesium-Ionen gegeben. Die Zellkern-Phosphatase mit dem Wirkungsoptimum bei $p_H = 9.8$ untersteht (bei optimaler Magnesium-Ionen-Konzentration) einer höheren Aktivitätssteigerung (etwa 40%) als die zweite, bei $p_H = 9.2$ wirksame Phosphatase, bei der die Erhöhung der Wirksamkeit nicht über 10% hinausgeht. Dabei liegt bei beiden Phosphatasen die günstigste Metall-Ionen-Konzentration für eine Aktivierung bei 0,002 m-Metallsalzlösung.

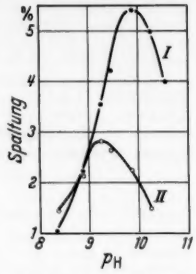


Fig. 1. p_H-Aktivitätskurven der in Zellkernen (I) sowie in Mikrosomen bzw. Mitochondrien (II) gebundenen alkalischen Phosphatasen. (Substrat: Glyzerin-β-phosphorsäure.) Die Versuchsansätze enthalten in 10 cm³: Ester in 0,04 m Lösung; 1,1 Ph. E.-[e]$_9^-$ bzw. 0,98 Ph. E.-[e]$_9^-$; 4 cm³ 2,5 n-Ammoniak/Ammoniumchlorid-Puffer der angegebenen p_H-Stufe. Reaktionsdauer 1 Std.; Reaktionstemperatur 37° C

Im Verhalten gegenüber Glyzerin-α-phosphorsäure und Glyzerin-p-Phosphorsäure weisen die beiden Phosphatasen Spezifitätsunterschiede auf.

Das Vorhandensein zweier voneinander unabhängiger Enzyme mit verschiedenen Eigenschaften in der Leber gibt eine begründete Erklärung ab für das Auftreten von *zwei* p_H-Wirkungsoptima, wie dies in einer vorhergehenden Arbeit von uns erstmals beschrieben wurde[2]).

Voraussetzung für das In-Lösung-Bringen des Enzyms mit dem Wirkungsoptimum bei $p_H = 9.2$ ist die Vorbehandlung des Azeton-Trockenpräparates mit n-Butanol. Das an Mikrosomen bzw. Mitochondrien gebundene Enzym ist wesentlich fester verankert als dasjenige, das in den Zellkernen vorkommt. Durch die Butanol-Vorbehandlung wird die Bindung des Enzyms in den Mikrosomen bzw. Mitochondrien gelockert und die Phosphatase einer besseren Extraktion durch Ammoniak zugänglich gemacht.

Als letztes uns bisher bekanntes Unterscheidungsmerkmal sei noch die verschieden große Stabilität der beiden Phosphatasen erwähnt. Das im Zellkern lokalisierte, leichter lösliche Enzym ist beim Aufbewahren in Lösung beständiger als das in den Mikrosomen bzw. Mitochondrien fester verankerte, schwerer lösbare Ferment.

Ein Problem, das wir erst in Angriff genommen haben, ist die Differenzierung der Enzyme in Mikrosomen und Mitochondrien. Die Beantwortung der Frage, ob beide Zellbestandteile oder nur einer von ihnen Phosphatase führen, setzt die Trennung der Mikrosomen von den Mitochondrien voraus.

Zur Durchführung der Versuche: Die Auftrennung des Leberhomogenates in seine Zellbestandteile wurde mit Hilfe der Methode von G. H. Hogeboom, W. C. Schneider und G. E. Palade[3]) vorgenommen. Man trennt dabei das mit 0,88 m Rohrzuckerlösung bereitete Frischleberhomogenat (Leber des Rindes) durch fraktioniertes Zentrifugieren in eine Zellkerne ($g = 1200$) und eine Mikrosomen samt Mitochondrien ($g = 21000$) enthaltende Fraktion auf. Darauf werden die beiden Zellfraktionen in Azeton-Trockenpräparate überführt. Bevor man daraus mit *m*/20-Ammoniaklösung Enzymlösungen herstellt, werden die Trockenpräparate einer Butanolbehandlung unterzogen. Wie R. K. Morton[4]) in einem anderen Fall gezeigt hat, läßt sich durch Butanolbehandlung die Enzymausbeute erhöhen.

Die Angabe der Aktivität erfolgt in Einheiten nach E. Bamann und E. Riedel[5]), wobei wir allerdings die Wirksamkeit nicht bei 30 sondern bei 37° C festgestellt haben. Das abgespaltene Phosphat wurde nach dem Verfahren von K. Schriever, E. Bamann und R. Toussaint[6]) bestimmt.

München, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität.

Eugen Bamann, Claus Gösswein und Josef Riehl

Eingegangen am 29. Oktober 1959

[1]) Bamann, E., u. W. Salzer: Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1263 (1937). — [2]) Riehl, J., E. Bamann u. W. Stadelmann: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **291** (63), 628 (1958). — [3]) Hoge-

BOOM, G. H., W. C. SCHNEIDER u. G. E. PALADE: J. Biol. Chem. 172, 619 (1948). — [4]) MORTON, R. K.: Nature [London] 166, 1092 (1950). — [5]) BAMANN, E., u. E. RIEDEL: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 229, 125 (1934). — [6]) SCHRIEVER, K., E. BAMANN u. R. TOUSSAINT: Dtsch. Apotheker-Ztg. 97, 899 (1958).

Artspezifische Unterschiede im Gehalt der Erythrocyten an Oestradiol-Dehydrogenasen

Die roten Blutzellen von Mensch, Kaninchen und Meerschweinchen reduzieren Oestron zu Oestradiol-17β[1]). Rinder-Erythrocyten sollen dagegen aus Oestron nur Oestradiol-17α[2]) oder aus Oestradiol-17β nur Oestron[3]) bilden. Diese widersprechenden Angaben veranlaßten uns, das Blut des Menschen und einer größeren Zahl von Tierarten auf seinen Gehalt an Oestradiol-Dehydrogenasen zu untersuchen.

Zur Inkubation mit den Oestrogenen wurden die Erythrocyten in isotonischem Phosphatpuffer vom p_H 7,4 aufgeschwemmt und die Suspensionen bei 37 bzw. 20° (Froschzellen) geschüttelt. Bei den vergleichenden Aktivitätsbestimmungen waren die Ansätze auf den gleichen Hämoglobin-Gehalt eingestellt. Die Isolierung, Identifizierung und quantitative Bestimmung der Steroide wurde im wesentlichen wie früher beschrieben[4]) ausgeführt. Die Oestradiol-Epimeren wurden papierchromatographisch im System Chloroform/Formamid aufgetrennt.

Unter diesen Bedingungen wird in allen geprüften Blutarten (Ratte, Goldhamster, Maus, Meerschweinchen, Kaninchen, Taube, Huhn, Ziege, Schaf, Rind, Schwein, Katze, Hund, Frosch und Mensch) ein Ferment gefunden, das Oestron zu Oestradiol-17β reduzieren und Oestradiol-17β zu Oestron oxydieren kann. Nur Rinder-Erythrocyten bilden aus Oestron neben Oestradiol-17β auch — und zwar bevorzugt — das α-Epimere. Oestradiol-17α wird von den meisten Tierarten nicht angegriffen. Eine Ausnahme bilden nur die roten Blutzellen von Rind, Schaf und Ziege, die auch das α-Epimere zu Oestron dehydrogenieren können.

Die Erythrocyten aller untersuchten Tierarten enthalten also eine Oestradiol-17β-Dehydrogenase. Die roten Blutzellen der Wiederkäuer besitzen daneben noch eine Oestradiol-17α-Dehydrogenase. Bemerkenswerterweise fehlt das α-Ferment in den Erythrocyten von Kaninchen und Hund. Diese Tierarten scheiden bekanntlich eingespritztes Oestron oder Oestradiol-17β ganz überwiegend als Oestradiol-17α aus. An den entsprechenden Umsetzungen ist also das Blut nicht beteiligt.

Die artspezifischen Differenzen in der Ausstattung der roten Blutzellen erstrecken sich nicht nur auf die Stereospezifität, sondern auch auf die relative Aktivität der Steroidfermente. Die Oestradiol-17β-Dehydrogenase ist weitaus am aktivsten in Ratten-Erythrocyten. Im Vergleich dazu besitzen die roten Blutzellen von Goldhamster und Maus immerhin noch 46 bzw. 34%, die von allen übrigen Tierarten jedoch nur 9 bis 2% der Aktivität des Rattenblutes. Die Erythrocyten des Menschen sind am wenigsten aktiv (< 1%). Einflüsse des Geschlechts auf die Aktivität sind weder beim Blut des Menschen noch der Ratte zu finden.

Die Oestradiol-17α-Dehydrogenase der Wiederkäuer hat die weitaus höchste Aktivität in den Rinder-Erythrocyten. Das α-Ferment bewirkt hier im Vergleich zum gleichzeitig anwesenden β-Enzym etwa 2mal so große Umsetzungen. Mit dem β-Ferment der Ratten-Erythrocyten verglichen, ist aber das α-Enzym der Rinderzellen nur etwa $^1/_{30}$ so aktiv. Bei Schaf und Ziege tritt die Aktivität des α-Ferments gegenüber dem konkurrierenden β-Enzym ganz zurück.

Ausführliche Veröffentlichung im Arch. exp. Path. Pharmakol.

Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Buch

HANS JOACHIM PORTIUS und KURT REPKE

Eingegangen am 24. Oktober 1959

[1]) REPKE, K., u. F. MARKWARDT: Arch. exp. Path. Pharmakol. 223, 271 (1954). — [2]) LEVY, L. K., M. HAGOPIAN u. C. A. FISH, angegeben von R. I. DORFMAN: Ann. Rev. Biochem. 26, 547 (1957). — [3]) AXELROD, L. R., u. N. T. WERTHESSEN: Arch. Biochem. Biophys. 83, 567 (1959). — [4]) REPKE, K.: Arch. exp. Path. Pharmakol. 230, 178 (1957).

Über einen Hemmstoff des Gerinnungsfermentes Thrombin aus blutsaugenden Raubwanzen (Reduviiden)

Im Verlauf unserer Untersuchungen über natürlich vorkommende Hemmstoffe der Blutgerinnung fanden wir in der blutsaugenden Raubwanze Rhodnius prolixus Stål. einen stark wirksamen Hemmstoff für das Gerinnungsferment Thrombin. Die genannte Reduviidenart kann im Laboratorium in großer Menge gezüchtet werden.

Um den Inhibitor zu gewinnen, ließen wir die Tiere an Stelle von Blut NaCl-Lösung aufnehmen. Zu diesem Zweck wurden die hungrigen Raubwanzen in Glaszylinder (⌀ 10cm) gebracht, deren eine Öffnung mit frischer Meerschweinchenhaut überspannt war (Haarseite nach innen) und in eine konstant auf 38° C erwärmte 0,9%ige Kochsalzlösung eintauchte. Die Tiere stachen die Haut an und saugten durchschnittlich 0,1 ml der darunter befindlichen Lösung. Danach wurde der prall gefüllte Darm mit einer feinen Kanüle punktiert und eine klare, fast farblose Lösung gewonnen, welche den gesuchten blutgerinnungshemmenden Wirkstoff enthielt. Die gesammelten Punktate wurden durch Ultrafiltration von niedermolekularen Bestandteilen befreit und lyophil getrocknet. Auf diese Weise ließen sich im Durchschnitt 0,1 mg Trockenpräparat pro Tier gewinnen mit einer Aktivität von 100 AT-E./mg.

Wie die elektrophoretische Auftrennung des gewonnenen Präparates zeigte, ist es noch mit einer größeren Menge unwirksamer eiweißartiger Ballaststoffe verunreinigt, von denen es durch präparative Elektrophorese weitgehend befreit werden kann. Der Wirkstoff wandert im elektrischen Feld bei neutraler Reaktion der Lösung zur Anode. Sein papierelektrophoretisch bestimmter isoelektrischer Punkt liegt bei p_H 3,7. Er verträgt 10 min langes Erwärmen auf 65° C und 10 min lange Einwirkung von Säure (n/10 HCl) oder Lauge (n/10 NaOH) ohne Aktivitätsverlust, wird aber bei 10 min langem Erhitzen der Lösung auf 100° C vollständig inaktiviert. Membranfilter (Porenweite < 5 mμ) durchdringt er nicht. Vom Pepsin wird er nicht angegriffen und durch Trypsin nur teilweise, durch Papain (aktiviert durch Cystein) aber vollständig zerstört. Eine weitere chemische und physikalische Charakterisierung konnte bisher wegen der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge nicht vorgenommen werden.

Tabelle. *Spaltung der Thrombin-Reduviin-Verbindung durch Einwirkung von Säure oder Lauge*

	Aktivität		
	Vor Einwirkung	Nach 10 min langer Einwirkung von	
		n/10 HCl	n/10 NaOH
Thrombin	10 NIH-E.	<0,5 NIH-E.	<0,5 NIH-E.
Reduviin	10 AT-E.	10 AT-E.	10 AT-E.
Thrombin + Reduviin	—	10 AT-E.	9,5 AT-E.

Der Wirkungsmechanismus des in Analogie zum Hirudin und Tabanin als Reduviin bezeichneten Hemmstoffes ist dem der genannten, von uns früher isolierten Thrombininhibitoren[1]) sehr ähnlich. Er reagiert mit dem Gerinnungsferment stöchiometrisch mit einer praktisch nicht mehr meßbaren Geschwindigkeit, wobei die proteolytische Wirkung des Thrombins auf sein natürliches Substrat Fibrinogen erlischt und die Fibrinbildung verhindert wird. Aus dem gebildeten inaktiven Komplex kann das Reduviin durch Einwirkung von Säure oder Lauge, die den Thrombinanteil zerstören, in aktiver Form in Freiheit gesetzt werden, was an der erneut auftretenden Hemmwirkung gegenüber aktivem Thrombin erkannt werden kann (Tabelle). Die Aktivität des Reduviins kann in Antithrombin-Einheiten (AT-E.) angegeben werden, wobei eine AT-E. derjenigen Menge entspricht, die eine NIH*)-Einheit Thrombin blockiert. Bei der Reaktion des Thrombins mit dem Reduviin wird auch die hydrolytische Aktivität des Fermentes auf den synthetischen p-Toluolsulfonyl-L-argininmethylester (TAME) gehemmt.

Pharmakologisches Institut der Universität, Greifswald

FRITZ MARKWARDT und ELISABETH SCHULZ

Eingegangen am 31. Oktober 1959

*) National Institutes of Health.

[1]) MARKWARDT, F.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 308, 147 (1957). — MARKWARDT, F., u. E. LEBERECHT: Naturwiss. 46, 17 (1959).

Effect of Acetylcholine on the Cardiovascular and Respiratory System in Different Experimental Preparations (and the Role of Baro-Receptors)

In urethane anaesthetized cats, with or without tying both adrenal veins, acetylcholine in doses of 1 μg (microgram) to 5 μg has been injected intravenously and the following

observations have been recorded. Acetylcholine in a dose of 5 μg in non-spinal animals (with vagi, carotid sinus intact and adrenal veins not tied) gives rise to a series of rhythmic waves on the blood pressure tracing after initial vasodepressor response (but no change in respiration). The duration of the waves is not more than 20 cycles per second (c/s). These waves were absent, when adrenal veins were tied. The percentage fall of blood pressure after acetylcholine injection before and after tying adrenal veins is not much different; it is not proportional to the dose of acetylcholine injection, when the dose was increased from 1 to 5 μg.

However, rhythmic waves in blood pressure curves, synchronous with increase and decrease of respiratory rate appear after acetylcholine injection in vagotomized and carotid occluded animals (frequency, 30 c/s). These waves are observed only after vasodepressor response of acetylcholine and when the blood pressor level is above 50 mm Hg. Hyperpnoea is attended with fall in blood pressure before adrenal veins are tied; following ligature of adrenal veins, hyperpnoea is coincident with rise in blood pressure. As vagi were cut and carotids were occluded, acetylcholine acts probably directly on the vasomotor and respiratory centre and the periodicity observed is an expression of an "unbalanced nervous regulation" of the cerebrospinal axis (in reticular motorneurone level). It has also been observed in these preparations that the Herring-Breuer reflex is essential for tachypnoea only. The depth of respiration depends upon the direct action of acetylcholine on the respiratory centre. Therefore a dissociation of respiratory control mechanism exists in the body. This is observed better under urethane anaesthesia (cf. chloralose).

In spinal animals (C_7-C_8), the fall in blood pressure with acetylcholine is related to the dosage used; but the maximal fall is observed with 3 μg dose only (unlike non-spinals). This is, we believe, due to acetylcholine acting on myoneural junctions paripassu with the spinal vasomotor neurones, working released of suprasegmental centre.

In hypothermic states, fall in blood pressure with acetylcholine in non-spinal preparations, is similar to or more than that observed in spinal preparations.

We are now inclined to re-affirm our previous views that adrenaline caused vagal activity[1]) is central in origin and can now be accounted for, by acetylcholine mechanism, as during hypothermia the above phenomenon is markedly augmented, and dissociation of respiratory control is also noticed[2]),[3]),[4]).

The role of baro-receptors in homeostasis of blood pressure should therefore be assessed in relation to anaesthesia, vasopressor or vasodepressor mechanism affecting directly reticular motor-neurones (both cardiovascular and respiratory centres) or spinal vasomotor neurones.

Department of Experimental Medical Sciences, Institute of Postgraduate Medical Education and Research, 244 Lower Circular Road, Calcutta 20, India

S. R. Mukherjee, J. Mitra and B. N. Koley

Eingegangen am 5. November 1959

[1]) Mukherjee, S. R., B. N. Koley and J. Mitra: a) Naturwiss. **45**, 469 (1958); b) Ind. J. Physiol. and Allied Sci. **12**, 85 (1958); c) Naturwiss. **46**, 449 (1959). — [2]) Mukherjee, S. R., and P. K. Dey: Ind. J. Physiol. and Allied Sci. **13**, 1 (1959). — [3]) Mukherjee, S. R., and R. Sinha: Ind. J. Physiol. and Allied Sci. **13**, 66 (1959). — [4]) Mukherjee, S. R., P. K. Dey and R. Sinha: J. Exp. Med. Sci. **3**, 16 (1959).

Die Wirkungen des 2,4-Dinitrophenols auf das Elektroretinogramm

2,4-Dinitrophenol (DNP) steigert den Sauerstoffverbrauch und führt unter Steigerung der Milchsäureproduktion zu einem Zusammenbruch des Glykogenvorrats. Dieser ist zugleich mit einem Verlust des Phosphokreatins und der Adenosintriphosphorsäure verbunden, bei Anstieg des anorganischen Phosphors. DNP verhindert also die Bildung von energiereichem Phosphat und den Elektronentransport von DPN-H zum Cytochromsystem, da DNP anscheinend labile Phosphorverbindungen abbaut. Somit wird die Dephosphorylierung von ATP durch DNP gefördert, die Umwandlungsgeschwindigkeit der nachfolgenden Hexokinasereaktion reduziert, so daß unter DNP sich Intermediärprodukte der Glykolyse anhäufen. DNP soll ein Akzeptor der Transphosphorylierungsreaktionen der ATP sein und die Eigenschaften der für die ATP-Dephosphorylierung wichtigen Enzyme umwandeln[1]). In der Retina werden unter DNP bei aeroben Bedingungen auch der Glucoseverbrauch und die Milchsäureproduktion gesteigert[2]). Da die Retina bei Helladaption mehr Phosphokreatin in Kreatin und Phosphat umsetzt, das Zapfenmyoid reichlich Glykogen enthält und die Gesamtretina ein erhebliches Glykolysevermögen besitzt, sollte die DNP-Wirkung auf das ERG untersucht werden, um den Anteil derartiger Stoffwechselprozesse an bioelektrischen Vorgängen aufzuzeigen. Darüber hinaus besitzt die Retina von allen Augengeweben den höchsten Gehalt an Magnesium, das am Stoffwechsel beteiligt ist[3]); denn es aktiviert die in der Retina allerdings langsamer als im Gehirn wirkende ATP-ase[3]). Der ATP-Abbau erfolgt bei Belichtung rascher, so daß unter Helladaptation der ATP-Gehalt der Retina geringer als unter Dunkeladaptation ist. Diese sich vorwiegend im Pigmentepithel abspielende Transphosphorylierung dient im wesentlichen durch Hemmung des Ionentransports der Aufrechterhaltung des Konzentrationsgefälles für Natriumionen, so daß retroretinal mehr Natriumionen vorhanden sind als in der Retina[4]). Das dadurch bewirkte Konzentrationselement ist Bestandteil des Ruhepotentials. Jede Beeinflussung dieser Stoffwechselvorgänge muß daher auch das ERG verändern, zumal Furukawa und Hanawa[5]) nachgewiesen haben, daß für die *b*-Welle Natriumionen unerläßlich sind. Alle Pharmaka, die die *b*-Welle beeinflussen, verändern auch den retinalen Natriumgehalt[6]).

Fröschen wurde 2 bis 5 Std vor der Isolation des Bulbus 2,4-DNP in einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ mol in Ringerlösung und einer Dosierung von 1 ml/50 g Körpergewicht in den Rückenlymphsack injiziert. Es ergab sich eine *a*-Wellenverkleinerung um 24% bei einer Latenzzunahme um das Dreifache. Auch die *b*- und *d*-Welle wurden signifikant kleiner und träger. Da alle ERG-Wellen kleiner werden und vor allem die ERG-Latenz zunimmt, muß daraus gefolgert werden, daß die Phasen P II und P III Stoffwechselprozesse notwendig haben, die vermutlich glykolytischen Ursprungs sind. Die im Verlauf des photochemischen Primärprozesses notwendig werdenden sekundären Stoffwechselvorgänge werden gleichfalls verlangsamt, was in der Zunahme der ERG-Latenz zum Ausdruck kommt. Es ist aber auch denkbar, daß unter DNP infolge des gesteigerten ATP-Abbaus der ATP-pool zum Erliegen kommt. Jedenfalls dürften die beschriebenen Stoffwechselvorgänge wohl an der ERG-Unterhaltung beteiligt sein, garantieren es jedoch nicht; mit anderen Worten, die durch DNP verursachten Stoffwechselstörungen vermögen wohl den ERG-Ablauf zu verzögern und die bioelektrischen Potentiale zu verkleinern, können aber ihr Auftreten nicht verhindern. Demnach wären bei der ERG-Entstehung Stoffwechselvorgänge nur sekundäre Prozesse.

Physiologisches Institut der Universität, Münster

W. Müller-Limmroth und W. Pohlschmidt

Eingegangen am 13. November 1959

[1]) Brigham, E., J. B. Truls u. O. Walaas: Acta physiol. scand. **37**, 48 (1956). — [2]) Süllmann, H.: Augen und Tränen, aus: B. Flaschenträger u. E. Lehnartz, Physiologische Chemie II/2a, S. 864. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — [3]) Gouré-vitch, A.: Bull. Soc. Chim. biol. [Paris] **32**, 725 (1950). — [4]) Müller-Limmroth, W.: Elektrophysiologie des Gesichtssinns. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959. — [5]) Furukawa, T., u. J. Hanawa: Jap. J. Physiol. **5**, 289 (1955). — [6]) Kuriyama, H. A., u. T. Jojima: Jap. J. Physiol. **7**, 271 (1957).

Summation cancerogener Wirkungen von chemisch verschiedenartigen Cancerogenen

1948 schlugen Druckrey und Küpfmüller[1]) ein Prinzip von grundsätzlicher Bedeutung vor, daß nämlich die Cancerisierung die Folge der Summation einer Anzahl von irreversiblen Veränderungen an solchen Zellbestandteilen ist, die als Determinanten für vererbbare Eigenschaften von somatischen Zellen wirken („Duplikanten"). Dieses Prinzip war aus der quantitativen Analyse der Erzeugung von Leberkrebs durch Fütterung mit einem Aminoazo-Farbstoff abgeleitet worden. Die weniger quantitativen Versuche mit Kohlenwasserstoffen oder anderen Gruppen von cancerogenen Substanzen sind damit nicht ohne weiteres vergleichbar. Unsere gegenwärtigen Versuche, bei denen zwei verschiedenartige Cancerogene gebraucht wurden, nämlich 4-Nitrochinolin-N-oxyd[2]) und 20-Methylcholanthren, zeigten nun, daß die Zell-Veränderung von „Normal" zu „Krebs" tatsächlich die Folge der Summation einer Anzahl von irreversiblen Veränderungen an Duplikanten sein kann.

Diese Kombination von Cancerogenen wurde gewählt, weil beide nach lokaler Anwendung trotz ihrer erheblichen chemischen Verschiedenheit Haut-Carcinome erzeugen. Das Ziel des Experimentes war, die Ausbeute an Tumoren nach Anwendung der beiden Cancerogene auf der Mäusehaut zu beobachten, wenn die Applikation in der Weise erfolgte, daß der Behandlungsperiode mit dem einen Cancerogen eine zweite mit dem anderen folgte, wobei die Dosen beider Cancerogene in einer Höhe gehalten wurden, in der jedes für sich allein keine Tumoren erzeugt. Diese unterschwellige Dosis wurde für beide Cancerogene empirisch bei einer 0,25%-igen Lösung in Benzol gefunden, wenn diese dreimal wöchentlich, im ganzen zehnmal, zur Anwendung kam. Dabei wurden ungefähr 0,02 ml der Lösung entsprechend 0,05 mg der Substanz mit einer kleinen Pipette jedes Mal auf die gleiche Hautfläche gebracht. Diese Dosis wurde als eine Behandlungs-„Einheit" in diesen Versuchsserien angewandt, die folgende Ergebnisse hatten:

1. In der Versuchsgruppe, die eine Behandlungs-„Einheit" entweder mit 4-Nitrochinolin-N-oxyd oder mit 20-Methylcholanthren erhalten hatten, entwickelte sich kein Tumor bis zum Ende der 200tägigen Beobachtungszeit. Auch die Behandlung mit zwei „Einheiten" 4-Nitrochinolin-N-oxyd, das sind 20 jeweils dreimal wöchentlich durchgeführte Applikationen, führte zu keinem Tumor. Wir wissen bereits, daß 30 oder mehr Applikationen Tumoren erzeugen. Sämtliche Gruppen setzten sich aus je 10 bis 20 Mäusen zusammen. Dagegen entstanden nach 20 Applikationen 20-Methylcholanthren bei 3 von 5 Mäusen Tumoren. Dies weist klar darauf hin, daß hinsichtlich der prozentualen Konzentration 20-Methylcholanthren ein stärkeres Cancerogen als 4-Nitrochinolin-N-oxyd ist. — 2. In der Versuchsgruppe, in der auf eine Behandlungs-„Einheit" 4-Nitrochinolin-N-oxyd sofort eine Behandlungs-„Einheit" 20-Methylcholanthren folgte, entwickelten 4 von 10 Mäusen Tumoren. — 3. Wenn die Reihenfolge der Behandlung umgekehrt wurde, also 20-Methylcholanthren dem 4-Nitrochinolin-N-oxyd voranging, trat bei 5 von 10 Mäusen ein Tumor auf. Die Zahl der Mäuse ist zu klein, um eine Signifikanz der geringfügigen Unterschiede zwischen den Tumor-Ausbeuten der oben erwähnten Versuchsgruppen festzustellen. Es scheint aber unbestreitbar, daß 4-Nitrochinolin-N-oxyd und 20-Methylcholanthren in ihrer cancerogenen Wirkung qualitativ gegenseitig austauschbar sind. — 4. In einem anderen Versuch erhielten Mäuse zuerst unterschwellige Dosen (zwei „Einheiten") 4-Nitrochinolin-N-oxyd und wurden nach 200 Tagen, als kein Tumor auftrat, mit einer für sich unterschwelligen Dosis (einer „Einheit") 20-Methylcholanthren nachbehandelt. Von den ersten vier Mäusen, die bisher in Versuch kamen, hatten zwei zur Zeit dieser Niederschrift Tumoren (80 Tage nach der Nachbehandlung). Der Versuch wird zur Zeit in mehreren Gruppen von jeweils einigen Mäusen durchgeführt und ist noch nicht abgeschlossen, aber es scheint doch schon sicher, daß die Wirkung der unterschwelligen Dosis 4-Nitrochinolin-N-oxyd fortbesteht und für lange Zeit summationsfähig bleibt.

HIEGER[3]) sowie LAVIK u. Mitarb.[4]) hatten bereits früher berichtet, daß 1,2-Benzpyren und 1,2,5,6-Dibenzanthrazen in ihrer cancerogenen Wirkung in der Weise gegenseitig austauschbar sind, daß eine unterschwellige Dosis der einen Substanz in der Lage ist, den durch die andere Substanz ausgelösten, aber noch nicht zur Tumorbildung führenden Prozeß zu vollenden. Die Eindeutigkeit dieses Experimentes ist jedoch dadurch beeinträchtigt, daß die beiden benutzten Cancerogene sowohl strukturell als auch vermutlich in ihrer chemischen Aktivität ähnlich sind. Deshalb mögen die Verhältnisse einfach der Gabe einer größeren Dosis eines einzelnen Cancerogens entsprechen. RUSCH u. Mitarb.[5]) zeigten dann, daß die durch 20-Methylcholanthren oder 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthren ausgelöste Cancerogenese durch eine nachfolgende Behandlung mit ultraviolettem Licht nicht beeinflußt werden konnte, auch nicht in der umgekehrten Reihenfolge. Dieser nicht-additive Effekt kann jedoch durch die Verschiedenheit des betroffenen Gewebes — Epithel im Fall der Kohlenwasserstoffe und Bindegewebe im Fall des UV-Lichtes — befriedigend erklärt werden[6]).

Beim 4-Nitrochinolin-N-oxyd und 20-Methylcholanthren verhält es sich dagegen anders, weil der Unterschied der Molekelgröße und Struktur so groß ist, daß vom rein chemischen Standpunkt aus die Annahme eines identischen cancerogenen Mechanismus nicht begründet ist. Trotzdem weist die Tatsache, daß der durch die eine Substanz ausgelöste cancerogene Prozeß durch die andere Substanz vervollständigt werden kann, darauf hin, daß der unmittelbare cancerogene Mechanismus beider Substanzen doch qualitativ identisch sein muß und daß die durch die eine Substanz hervorgerufene Veränderung von Duplikanten mit der durch die andere bewirkten summationsfähig ist.

Die Zahl der Duplikanten, die verändert werden müssen, um die Cancerogenese zu vollenden, kann noch nicht bestimmt werden. Da jedoch in unseren Versuchen das 20-Methylcholanthren bei der verwendeten Dosierung wirksamer war als 4-Nitrochinolin-N-oxyd und da ferner die unterschwellige Dosis der letzteren Substanz allein mindestens einen Duplikanten verändert haben muß, ist es zwingend, daß 20-Methylcholanthren mindestens zwei Duplikanten veränderte. Wenn auch wahrscheinlich viel mehr Duplikanten verändert wurden, so kann doch festgestellt werden, daß die Zahl der Duplikanten, die verändert werden müssen, um die Cancerogenese zu vollenden, nicht kleiner als drei sein kann.

Über diese Versuche wird später ausführlich in der japanischen Zeitschrift für Krebsforschung „Gann" berichtet werden.

Cancer Institute, Japanese Foundation for Cancer Research, Nishi-Sugano, Toshima-ku, Tokio, Japan

WARO NAKAHARA und FUMIKO FUKUOKA

Eingegangen am 24. Oktober 1959

[1]) DRUCKREY, H., u. K. KÜPFMÜLLER: Z. Naturforsch. 3b, 254 (1948). — DRUCKREY, H.: Acta Unio Intern. contr. Cancrum 10, 29 (1954). — [2]) NAKAHARA, W., F. FUKUOKA u. T. SUGIMURA: Gann 48, 129 (1957). — NAKAHARA, W., F. FUKUOKA u. S. SAKAI: Gann 49, 33 (1958). — NAKAHARA, W., u. F. FUKUOKA: Gann 50, 1 (1959). — [3]) HIEGER, I.: Amer. J. Cancer 28, 522 (1936). — [4]) LAVIK, P.S., P.R. MOORE, H.P. RUSCH u. C.A. BAUMANN: Cancer Res. 2, 189 (1942). — [5]) RUSCH, H.P., B.E. KLINE u. C.A. BAUMANN: Cancer Res. 2, 183 (1942). — [6]) GRADY, H.G., H.F. BLUM u. J.S. KIRBY-SMITH: J. Nat. Cancer Inst. 2, 269 (1941).

Deoxycytidylic Deaminase in Carcinogenic Rat Liver

Recently, in a communication to this journal[1]), we reported that there occurs a sudden loss of deoxynucleotidase activity of the hepatic cell when the Sprague-Dawley rats are fed for some 75 to 80 days with carcinogenic 3′-Methyl-4-dimethyl aminoazobenzene (0·06%) in a semisynthetic, carbohydrate-rich, riboflavin-poor diet. The interesting feature of this event is that it coincides with the period at which there is a sudden outburst of massive cellular proliferation with the appearance of a new cell type which has all the characteristics of the malignant cell.

The rate at which e.g. dCMP (5′-deoxycytidylic acid) is dephosphorylated by cancerous liver of rat or by transplantable Novikoff hepatoma is only 10 to 15% of the normal control on per cell or unit of DNA (5×10^{-12} g) basis. Deoxycytidine monophosphate (dCMP) is considered with a good evidence[2]) for the maternal substance of other pyrimidine deoxynucleotides, deoxyuridylic (dUMP) and thymidylic (TMP) acids. The loss of dCMP-ase and of other deoxynucleotidases (dUMP-, TMP-, dAMP-, and dGMP-ases) observed at the critical stage of carcinogenesis might be an important factor in malignant transformation inasmuch it may favorize the presence in the cell of deoxynucleotides, ready to be used, after further phosphorylation, for DNA synthesis. If this assumption is justified, a condition should be manifested by cancerous liver which would lead to a greater formation of dUMP as the precursor of TMP by the deamination of dCMP than in normal liver. The homogenate made from the liver of an adult rat, does not, however, deaminate dCMP. Only deoxycytidine (dC) and traces of dCMP are products of the reaction in this case as can be ascertained by paper chromatography[3]) and spectral and chemical characteristics of eluates from fluorescent spots. The enzyme, dCMP-deaminase, which does not function in, or is absent from, the normal liver, should be present in cancerous rat liver tissue.

Fig. 1 shows that this is really the case. The U.V. spectra of perchloric acid (5%) extracts at the beginning and after 60′ incubation of normal rat liver homogenates with dCMP, are identical. They are the spectra of dCMP, or, after 60′, of its dephosphorylated product, dC. They are, of course, also identical with the spectrum of hepatoma homogenate with dCMP at the beginning of incubation. After 60′, however, there is a striking change, with a maximal decrease of optical extinction at 280 mμ (abs. max. of deoxycytidylic compounds) and maximal increase in the extinction at 260 mμ (abs. max.

of deoxyuridylic compounds). The conclusions were confirmed by paper chromatography. The elution with 5% PCA of fluorescent spots ($R_f = 0{\cdot}31$ and $0{\cdot}80$), their spectral and chemical characterization showed that the first spot belongs wholly to dUMP, the second to a mixture of dU (deoxyuridine) with some dC. Besides, some unidentified uridine compound (R_f 0·7) seemed also to be formed. When dC instead of dCMP was incubated with hepatoma homogenate no dU or dUMP was detected. In the case of normal liver also no dU or dUMP were formed from dCMP. The enzyme, dCMP-deaminase, which is missing, or, more probably inhibited, in normal adult rat liver tissue, makes its appearance in Novikoff hepatoma and also in rat liver at the critical stage of carcinogenesis.

The increase in the activity or new appearance of an enzyme in a tumor cell seems to be an exception to a far more frequent depletion of enzymatic activities in tumors. Another example of this kind is, of course, the increased anaerobic and aerobic glycolysis of tumors, discovered by WARBURG[4]),

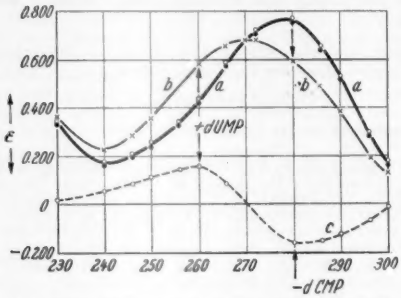


Fig. 1. U.V. spectra of perchloric acid extracts of normal liver (NL) and of Novikoff Hepatoma (T) homogenates incubated with dCMP. *a* NL 0′ ≡ NL 60′ ≡ T 0′. *b* T 60′. *c* = *b*—*a*. Tissue homogenized (1:5) in 0·2 M phosphate buffer, p_H 7·5, and centrifuged for 20′ at 18000 xg (6). — Incubation mixture: 1 ml. supernatant, 1 ml. dCMP (5 μMoles), 1 ml. buffer. Reaction stopped with 30% $HClO_4$ (1 ml). — Perchloric acid extract diluted 1:100 with 5% $HClO_4$ for spectrophotometry

which also occurs at the critical stage of carcinogenesis in rat liver, when a sudden change in several parameters occurs[5a]). It seems likely that there is a common underlying mechanism to all these sudden changes which occur in the cell at this stage[5b]).

One has to add that although there can hardly be any doubt that the depletion of dCMP-ase and the appearance of dCMP-deaminase are connected with the proliferation of malignantly transformed cells in rat liver because these changes are characteristic for liver tumors and absent from normal rat liver, the absence of dCMP-ase and the presence of dCMP-deaminase do not, by themselves, mean necessarily malignancy. Other factors may hinder the unrestricted DNA synthesis. This is obvious from the recent report[6]) of a deamination of dCMP in normal rabbit liver, where, apparently, dephosphorylation of dCMP did not occur.

Department of Pathology, Columbia University, and Francis Delafield Hospital, New York City

SILVIO FIALA, ANNA E. FIALA and WALTER GLINSMANN

Eingegangen am 6. November 1959

[1]) FIALA, S., W. GLINSMANN and A.E. FIALA: Naturwiss. **46**, 653 (1959). — [2]) REICHARD, P.: J. Biol. Chem. **234**, 244 (1959). — [3]) PLESNER, P.: Acta chem. scand. **9**, 197 (1955). — [4]) WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin: Springer 1926. — [5]) FIALA, S., and A.E. FIALA: Brit. J. Cancer **13**, a) 136, b) 236 (1959). — [6]) SCARANO, E., and M. TALARICO: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **35**, 57 (1959).

The Determining Influence of the Dose and Nature of Orally Administered Carcinogens on Mouse Skin Tumours Promoted with Tween 40

A single oral dose of a carcinogen causes, contrary to earlier assumptions, an evident morphological response in the epidermis of the back of the mouse[1]).

In order to elucidate the significance of these alterations the investigation has now been continued by a single oral initiation with 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA), 20-methylcholanthrene (MC) or ethyl carbamate (urethane) in accordance wi'\ the dosage scheme previously reported[1]), and subsequent tumour promotion treatment. Each series consisted of 50 female albino mice of our own strain, about 3 months old at the commencement of the experiment. After an interval of 30 days the mice were painted 6 times a week on the skin of the back with anhydrous Tween 40 (polyoxyethylene sorbitan monopalmitate)[2]) which has previously been shown to have a strong tumour-promoting property after a single local initiation[3]),[4]).

The result after 28 weeks of treatment shows, firstly that Tween 40, like Tween 60[5]), is a tumour promoter for mouse skin also when the carcinogen is given orally, and secondly that the tumour yield, at least in the DMBA series, as well as the speed of tumour development, were directly proportional to the dose of the carcinogen. Skin tumours were first observed in the DMBA group, then in the urethane group and last of all in the MC group. During the observation period, no local tumours arose in the series treated with Tween 40 alone or in that to which only the pure solvent was given.

These results are definitely in favor of the view that the tumour initiator has a determining effect on skin tumorigenesis when the promotion treatment is kept constant. Consequently, when the two-stage technique is employed, we are treating the phenomena of initiation and promotion as two wholly separate matters.

The investigation is being continued and the final detailed data will in due course be published elsewhere.

Supported by grant C-2930 M & G from the National Cancer Institute, National Institutes of Health, U.S. Public Health Service, Bethesda, Md.

Department of Pathology (Chief: Prof. KAI SETÄLÄ, M.D.), *University of Helsinki, Helsinki, Finland*

EINO ERKKI NISKANEN and LAURI MERENMIES

Eingegangen am 12. November 1959

[1]) NISKANEN, E.E., and L. MERENMIES: Naturwiss. **46**, 583 (1959). — [2]) Atlas surface active agents. Wilmington, Del., U.S.A.: Atlas Powder Co. 1950. — [3]) SETÄLÄ, H.: Acta path. microbiol. scand. Suppl. 115 (1956). — [4]) MERENMIES, L.: Acta path. microbiol. scand. Suppl. 130 (1959). — [5]) ESCH, G. J., VAN H. VAN GENDEREN and H.H. VINK: Brit. J. Cancer **12**, 355 (1958).

Experimental Colloid Goitre in Some Viviparous Toothcarps Produced by Thiouracil Treatment

Thiourea and thiouracil treatment has a considerable influence not only on the thyroid gland of man and mammals, but also on that of fishes[1–4]). Thus we succeeded, by means of thiouracil solutions of 0·05 percent, in inducing in the viviparous Toothcarps *Xiphophorus helleri* and *Lebistes reticulatus* a hyperplasia of the thyroid gland consisting in an increase of the number of the follicles, an increase in number of cells per follicle, an increase in height of the follicle epithelium and a disappearance of the colloid, and moreover in some cases in a hyperplastic adenoma of the organ[4]). This tumour showed irregular, solid masses of trabeculae of cells, an oedematous or fibrous stroma, mostly absence of follicles, sometimes remnants of follicular structure, but disappearance of the colloid and infiltration into the surrounding organs, such as the gills, the cartilagineous skeleton of the mouth bottom, the blood vessels and the musculature. Degenerative changes, such as softening of the tissue, formation of cysts and cystic spaces, fibrous calcification, pigmentation and haemorrhages were not observed.

Continued investigation, also using thiouracil 0·05 percent solutions in *Lebistes reticulatus, Xiphophorus helleri, Xiphophorus maculatus, Heterandria formosa* and *Dermogenys pusillus* revealed some cases of colloid goitre. The thiouracil treatment was applied for 70 days, after which the animals were allowed to live for varying intervals up to 85 days.

Within the first week after thiouracil treatment an extensive hyperplasia with loss of colloid accompanied by an increased vascularity was observed. This result corresponds with the findings in the hamster[5–7]). After discontinuing the thiouracil treatment the thyroid follicles appeared to fill up with colloid, whereas much of the epithelium became flattened. Strands of columnar cells were observed projecting into the follicle lumens, however. Just as in the hamster[7]) the degree of colloid deposition is related to the antecedent hyperplasia, which approximately corresponds with the time the fishes received the thiouracil, together with the length of the repletion period.

These results correspond very well with the findings of FOLLIS[7]) in the hamster and are an argument for the hypothesis of MARINE[8]), [9]) according to whom the colloid goitre is an iodine-deficiency disease.

Histological Laboratory, Free University, Amsterdam

A. STOLK

Eingegangen am 23. Oktober 1959

[1]) GOLDSMITH, E.D., R.F. NIGRELLI, A.S. GORDON, H.A. CHARIPPER and M. GORDON: Endocrinology **35**, 132 (1944). — [2]) NIGRELLI, R.F., E.D. GOLDSMITH and H.A. CHARIPPER: Anat. Rec. **94**, 79 (1946). — [3]) LEVER, J., J. MILTENBURG and G.J. VAN OORDT: Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. **52**, 296 (1949). — [4]) STOLK, A.: Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. **58**, 313, 322 (1955). — [5]) MITCHELL, D.F.: J. Dent. Res. **29**, 386 (1950). — [6]) KROON, D.B.: Acta endocrinol. **8**, 343 (1951). — [7]) FOLLIS, R.H.: Nature [London] **183**, 1817 (1959). — [8]) MARINE, D., and C.H. LENHART: Bull. Johns Hopkins Hosp. **20**, 131 (1909). — [9]) MARINE, D., and W.W. WILLIAMS: Arch. Intern. Med. **1**, 349 (1909).

Herstellung von Chlorella-Farbmutanten mit Hilfe von radioaktiven Isotopen

Bei stoffwechselphysiologischen Untersuchungen an chlorophylldefekten höheren Pflanzen stellte es sich als störend heraus, daß alle ihre Organe aus Zellen mit sehr unterschiedlichen physiologischen und chemischen Merkmalen aufgebaut sind. Um diese Schwierigkeit auszuschließen, wurde für bestimmte Untersuchungen die einzellige Grünalge *Chlorella vulgaris*, von der durch Behandlung mit Röntgenstrahlen schon mehrfach chlorophylldefekte Mutanten gewonnen wurden[1]),[2]), ins Auge gefaßt. In der vorliegenden Mitteilung wird über die Herstellung derartiger Mutanten mit Hilfe von radioaktivem Phosphat und Sulfat berichtet.

Material und Methode. Für die Versuche stand uns der Stamm „11h" von *Chlorella vulgaris*, den uns Herr Prof. A. PIRSON freundlicherweise überlassen hatte, zur Verfügung. Die Nährlösung für die Kultur des Ausgangsstammes und der Mutanten hatte folgende Zusammensetzung:

KNO_3	0,809 g	$NaH_2PO_4 \cdot 2\,H_2O$	0,444 g
NaCl	0,468 g	$Na_2HPO_4 \cdot 2\,H_2O$	0,178 g
$CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$	0,022 g	$FeCl_3$ (5%ige Lösung)	1 Tropfen
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,247 g	Glukose	7,00 g
$MnCl_2 \cdot 4\,H_2O$	0,0002 g	Aqua dest.	1000 ml
$ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	0,0013 g		

Für die Kultur auf festem Nährboden (Schrägagarröhrchen, Petrischalen) wurde außerdem 2% Agar zugegeben. Der Zusatz von Zucker zur Nährlösung war erforderlich, um auch die Entwicklung stark chlorophylldefekter, heterotropher Mutanten zu ermöglichen.

Je 0,5 ml konzentrierte Algensuspension wurde mit 1 ml P^{32}- und S^{35}-Lösung, deren spezifische Aktivität 1 mC betrug, vermischt. P^{32} lag in Form von Orthophosphat, S^{35} in Form von Sulfat vor. Die Algensuspension wurde direkt in die Isotopenversandgläschen einpipettiert. Nach einer Woche wurde jedem Gläschen 0,5 ml Suspension entnommen und mit steriler Nährlösung so stark verdünnt, daß sich beim Ausstreichen von 0,3 ml auf Agar in Petrischalen von 9 cm Durchmesser Einzellkulturen entwickelten. Die Schalen verblieben vier Wochen bei Zimmertemperatur im diffusen Tageslicht. Ende Juni 1958 wurden unter dem Binokular visuell abweichende Kolonien oder Sektoren von Kolonien ausgesucht und in Schrägagarröhrchen übertragen.

Ergebnisse. Bei der Durchsicht von je fünf Schalen des P^{32}- und S^{35}-Versuches wurden 47 bzw. 38 Farbvarianten festgestellt und isoliert. Die zunächst unterschiedenen vier groben Farbklassen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Eine

Tabelle 1. *Anzahl der ursprünglichen und (in Klammern) weiterkultivierten Isolate und ihre Verteilung auf vier Farbgruppen*

Mutantengruppe	P^{32}-Versuch	S^{35}-Versuch	Insgesamt
Gelbgrün bis olivdunkelgrün	27 (12)	24 (15)	51 (27)
Grün, rauh, trocken	2 (1)	1 (1)	3 (2)
Weißlich	3 (1)	2 (—)	5 (1)
Gelb bis braun	15 (5)	11 (3)	26 (8)
Insgesamt	47 (19)	38 (19)	85 (38)

Heterogenitätsprüfung der P^{32}- und S^{35}-Reihe für die Verteilung der Varianten auf die vier Gruppen ergab eine gute Übereinstimmung ($\chi^2_{N=3} = 0{,}376$; $P > 0{,}94$). Von den ursprünglichen 85 Isolaten wurden nach Ausscheidung wuchs-

Tabelle 2. *Übersicht über die Färbungen der weiterkultivierten Mutanten* (P^{32}-Versuch, S^{35}-Versuch, Summe)

Farbgruppe	P^{32}	S^{35}	zus.	Farbgruppe	P^{32}	S^{35}	zus.
Grün, rauh .	1	1	2	Weißlich . .	1	—	1
Dunkelgrün	1	3	4	Dottergelb .	2	—	2
Mittelgrün .	2	3	5	Senfgelb . .	1	—	1
Dunkeloliv .	1	—	1	Gelbbraun .	—	1	1
Helloliv . .	5	2	7	Mittelbraun	1	1	2
Hellgrün . .	2	3	5	Dunkelbraun	—	1	1
Grüngelb .	2	4	6				

schwacher Varianten 38, die in Tabelle 2 in 13 Farbgruppen aufgeteilt sind, ausgewählt. Sie behielten ihren abweichenden Charakter nach bisher sieben Überimpfungen bei; Einzellkulturen, die von sechs der Varianten hergestellt wurden, erwiesen sich in allen Fällen als mit der jeweiligen Ausgangsform identisch.

Zur näheren Kennzeichnung wurden aus typischen Vertretern der Mutantengruppen die Pigmente extrahiert und deren Absorptionskurven ermittelt. Diese bestätigen, was schon das Aussehen der Kulturen erkennen läßt, daß der Chlorophyllgehalt mehr oder weniger reduziert ist und einige Mutanten überhaupt kein Chlorophyll enthalten. Der Carotinoidgehalt der Mutanten kann vermehrt oder vermindert sein. Aus dem Verlauf der Kurven geht ferner hervor, daß bei einer Reihe von Mutanten der Carotinoidkomplex qualitativ und quantitativ stark abgeändert ist. Über diese Untersuchungen sowie über die Bestimmung von Wachstumsmerkmalen der Mutanten wird an anderer Stelle ausführlich berichtet.

Die mitgeteilten Befunde zeigen, daß sich mit Hilfe von radioaktivem Phosphor und Schwefel die verschiedensten Pigmentmutanten von *Chlorella* leicht und in großer Zahl gewinnen lassen.

Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Köln-Vogelsang

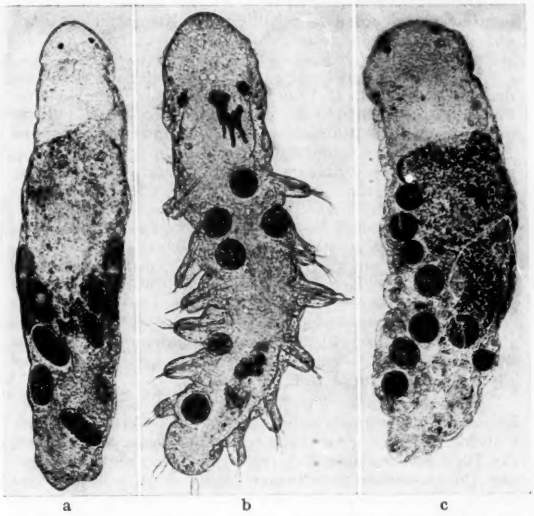
P. SCHWARZE und N.O. FRANDSEN

Eingegangen am 17. November 1959

[1]) CLAES, H.: Naturforsch. **9b**, 461 (1954). — [2]) GRANICK, S.: J. Biol. Chemistry **172**, 717 (1948).

Reziproke Infektion mit Eucoccidien aus verschiedenen Wirten

Die *Eucoccidien* unterscheiden sich von den übrigen Coccidien durch ihre extrazelluläre Entwicklung und das



Figur. *Eucoccidium*-Arten in verschiedenen Wirten. *a E. dinophili* in *Dinophilus gyrociliatus*; *b E. ophryotrochae* in *Ophryotrocha puerilis* (Jungtier, sechs Parapodiensegmente); *c E. ophryotrochae* in *Dinophilus gyrociliatus*. — Lebendaufnahmen

Fehlen der Schizogonie. Die zuerst entdeckte Art, *Eucoccidium dinophili* [GRELL 1953][1]) kommt in der Leibeshöhle des Archianneliden *Dinophilus gyrociliatus* vor und läßt sich

mit ihrem Wirt in ständiger Reinkultur züchten. Die Sporen können in Seewasser aufbewahrt werden und sind jahrelang infektionsfähig. Da die Körperdecke des Wirtes durchsichtig ist, lassen sich alle Entwicklungsstadien des Parasiten im Leben erkennen (Fig. 1a).

Während eines Aufenthaltes an der Zoologischen Station in Neapel konnte ich eine weitere Art der Gattung *Eucoccidium* auffinden. Diese lebt in der Leibeshöhle des Polychaeten *Ophryotrocha puerilis* und wird als *Eucoccidium ophryotrochae* n. sp. bezeichnet. Auch diese Art ließ sich mit ihrem Wirt in Kultur nehmen. Ihre Entwicklung stimmt weitgehend mit der von *E. dinophili* überein. Sie kann parthenogenetisch oder bisexuell verlaufen. Morphologisch lassen sich beide Arten leicht voneinander unterscheiden. Bei *E. dinophili* sind die Oocysten oval, bei *E. ophryotrochae* rund. Außerdem enthalten die Sporen von *E. ophryotrochae* eine größere Zahl von Sporozoiten als die von *E. dinophili*. Auch die Entwicklungsstadien von *E. ophryotrochae* sind durch die transparente Haut des Wirtes gut erkennbar (Fig. 1b).

Infektionsversuche ergaben, daß sich *E. dinophili* nicht auf *Ophryotrocha puerilis* übertragen läßt. Dagegen ist es leicht möglich, *Dinophilus gyrociliatus* mit *E. ophryotrochae* zu infizieren (Fig. 1c). *Dinophilus gyrociliatus* besitzt aber eine wesentlich größere Resistenz gegen *E. ophryotrochae* als gegen *E. dinophili*. Dies äußert sich darin, daß nur ein kleiner Teil der Sporozoiten zur Entwicklung kommt und viele Oocysten absterben. Die Sporen derjenigen Oocysten, welche ihre Sporogonie zu Ende führen, können aber wieder zur Infektion verwendet werden, so daß es möglich ist, *E. ophryotrochae* ausschließlich in *Dinophilus gyrociliatus* weiter zu züchten.

Daher läßt sich die Frage, worauf die größere Resistenz von *Dinophilus gyrociliatus* gegen *E. ophryotrochae* beruht, experimentell in Angriff nehmen. Außerdem ist zu prüfen, ob sich beide *Eucoccidium*-Arten in dem gemeinsamen Wirt miteinander kreuzen lassen.

Eine ausführliche Bearbeitung von *E. ophryotrochae* wird im Arch. für Protistenkunde erscheinen.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Zoologisches Institut der Universität, Tübingen

K. G. Grell

Eingegangen am 14. Oktober 1959

[1]) Grell, K. G.: Naturwiss. **40**, 227 (1953). — Arch. Protistenkunde **99**, 156 (1953).

Besprechungen

Stenzel u. Brosze: Leitfaden zur Berechnung von Schallvorgängen. Zweite, neubearbeitete Auflage von O. Brosze. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. IV, 168 S., 149 Abb. u. 28 Tabellen. Gr.-8⁰. Gzl. DM 31.50.

H. Stenzels Leitfaden zur Berechnung von Schallvorgängen ist seit seinem ersten Erscheinen im Jahre 1939 im In- und Ausland zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel für alle Techniker und Physiker geworden, die sich mit akustischen oder auch elektrischen Strahlern befassen. Viele akustische Strahler können durch eine schwingende Kolbenmembran approximiert werden. Dabei macht die Berechnung des Fernfeldes keine Schwierigkeiten, aber oft ist gerade das Nahfeld von Interesse, dessen rechnerische Bestimmung außerordentlich kompliziert und zeitraubend ist. Sich dieser Mühe unterzogen zu haben und die resultierenden Felder für zwei Einzelstrahler und die kreisförmige Kolbenmembran in sehr allgemeiner Form übersichtlich dargestellt zu haben, gehört zu den wesentlichen Verdiensten von H. Stenzel.

Die seit langem vergriffene 1. Auflage befaßte sich außerdem eingehend mit dem Schallfeld des Kugelstrahlers sowie mit den durch eine starre Kugel verursachten Schallfeldstörungen.

Es ist ohne Zweifel sehr zu begrüßen, daß nach dem Tode des Autors nunmehr O. Brosze eine 2. Auflage in erweiterter Form herausgebracht hat. Neu hinzugekommen sind die quadratische und die rechteckige Kolbenmembran und die Berechnung des Schallfeldes in der Umgebung eines starren, unendlich langen Zylinders. Letzteres dürfte insbesondere für die *Sonar*-Technik und — auf elektrische Wellen übertragen — für die *Radar*-Technik von Interesse sein.

Es erübrigt sich, besonders auf die Bedeutung dieses nunmehr von 124 auf 167 Seiten angewachsenen Buches hinzuweisen. Wer mit den genannten Problemen zu tun hat, kennt es und wird sich nunmehr gern der erweiterten zweiten Auflage bedeienen. G. Kurtze (Göttingen)

Karagounis, Georg: Einführung in die Elektronentheorie organischer Verbindungen. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959. IV, 195 S. u. 40 Abb. 8⁰. DM 24.—.

Nach dem Vorwort ist das vorliegende Buch aus einer Reihe von Vorlesungen entstanden, die der Verfasser an der Universität Freiburg für Studierende der Chemie gehalten hat. Der Band erhebt keinen Anspruch darauf, den heutigen Stand der Quantenchemie wiederzugeben, sondern will nur versuchen, deren Prinzipien in elementarer Weise dem Studenten der Chemie nahe zu bringen. Dabei sollte nicht auf die mathematische Bildersprache verzichtet werden. Bei einer Besprechung muß man daher versuchen zu beurteilen, wieweit der Verfasser das selbst gesteckte Ziel erreicht hat, man wird insbesondere einer Reihe von Unklarheiten und Unsauberkeiten in den ersten Paragraphen kein zu großes Gewicht beilegen, wenn man diese auch in einer Neuauflage lieber beseitigt sähe. Allerdings kann man über das, was zu Beginn von § 10 gesagt wird, nicht wohl hinweggehen.

Den wichtigsten Teil des Buches stellen die §§ 14 bis 21 dar, wo man unter den Stichworten Resonanz, Komplanarität und sterische Hinderung; Hybridisierung; Bindungsgrad und Atomabstände; Dipolmoment und Konstitution; Molekularrefraktion, magnetische Suszeptibilität und chemische Bindung; Einfluß von Elektronenverschiebungen auf die Lage von chemischen Gleichgewichten; Farbe, chemische Konstitution und Mesomerie; die chemische Reaktivität vom Ständpunkt der Elektronentheorie ein großes experimentelles Material diskutiert findet. Der Organiker, der dieses durcharbeitet, wird zweifellos Nutzen daraus ziehen können.

Wer über umfangreiche Informationen im einzelnen hinaus einen überzeugenden logischen Aufbau sucht, wird nicht immer zu seinem Recht kommen. Über den Wert des Buches, das in einer zweiten Auflage zweifellos verbesserungsfähig wäre, wird die Erfahrung entscheiden. W. Jost (Göttingen)

Cell, Organisms and Milieu. Ed. by Dorothea Rudnick. 17th Symposion der Soc. Study of Development and Growth. 1958. New York: Ronald Press Co. 1959. V, 326 S. u. 135 Fig. Gr.-8⁰. Geb. $ 8.—.

Das interessante Buch besteht aus 10 Beiträgen zur Problematik der Differenzierung und des Wachstums von Zellen als Antwort auf eine chemisch veränderte Umwelt. Die Beiträge sind alle die Früchte jahrelangen eigenen Forschens jedes Autors und zugleich eine Übersicht über die Ergebnisse anderer Untersuchungen auf demselben Gebiete. Sie sind mit guten Illustrationen und Tabellen (insgesamt 33) versehen und enthalten je ein Literaturverzeichnis, in welchem die Titel der Arbeiten angeführt sind: ein Vorbild für alle Zeitschriften und Bücher! Die 10 Beiträge umfassen, in Kürze charakterisiert, folgende Probleme Differenzierung und natürlich-unnatürliche Zellumwelt, Vitamin A, Phenylalanin, Actomyosin (C. E. Wilde). Zellstrukturen und Zellbewegungen (H. Hoffmann-Berling). Enzymatische Rolle des Tocopherols in Muskeln als Co-Faktor der Cytochrom-c-Reduktase (A. Nasen, F. D. Vasington). Regulation des Myometriums (A. Csapo). Rolle der alkalischen und sauren Phosphatasen im Duodenum und seine hormonale Kontrolle (F. Moog). Insekten-Wachstums-Hormone (A. Schneidermann, L. I. Gilbert). Exper. Modifikationen der Entwicklung der Pflanzenwurzeln (J. G. Torrey). Chemische Regulationen des Früchte-Wachstums (L. C. Luckwill). Die CO_2-Spannung beim Wachstum und bei der Differenzierung von Hydra (W. F. Loomis). Biochemie des Blastocysten der Säugetiere (C. Lutwak-Mann). — Interessant für Biochemiker, Biologen, Botaniker, Anatomen. Leider fehlen die Diskussionen. G. C. Hirsch (Göttingen)

Herausgeber und verantwortlicher Redakteur: Professor Dr. Ernst Lamla, Göttingen. — Verantwortlich für den Anzeigenteil: Günter Holtz, Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3. — Springer-Verlag OHG, Berlin-Göttingen-Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg. — Printed in Germany

Bausteine der Körperwelt und der Strahlung

Von Professor Dr. EDUARD RÜCHARDT,
o. ö. Professor für Physik
an der Universität München
(Verständliche Wissenschaft, Bd. 71)
Mit 87 Abbildungen. VIII, 138 Seiten Kl.-8⁰.
Ganzleinen DM 8,80

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

MIKROSKOPE
aller Art
monokular · binokular · stereoskopisch
für Beobachtungen im auffallenden und durchfallenden Licht
für Polarisation, Dunkelfeld und Phasenkontrast

STEREOLUPEN · KALTLICHT-LEUCHTLUPEN

BECK KASSEL CBS Gegr. 1892

CHR. BECK & SÖHNE · KG-KASSEL
Feinmechanik und Optik
Fordern Sie bitte Prospekt Nr. 40 an!

Theoretische Biochemie

Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensvorgänge. Von HANS NETTER, o. ö. Professor der physiologischen Chemie an der Universität Kiel. Mit 243 Textabbildungen. IX, 816 Seiten Gr.-8⁰. 1959.

Ganzleinen DM 88,—

INHALTSÜBERSICHT

Statik: Teilchen und Kräfte in molekularen Dimensionen. Wasser, Diffusion, Osmose. Die Elektrolyte. Phasen und Grenzflächen. Hochmolekulare Strukturbildner.

Dynamik: Energetische Grundlagen der Lebensvorgänge. Physikalische Grundlagen der biologischen Oxydationen. Biologische Verwendung und Schaffung freier chemischer Energie. Die Steuerung der Geschwindigkeit biochemischer Reaktionen. Dynamische und strukturelle Funktionseinheiten. Anhang. Literatur- und Sachverzeichnis.

ZUR INFORMATION

In dem breitangelegten Buch wird der vom Verfasser vor 7 Jahren mit der „Biologischen Physikochemie" begonnene Versuch weitergeführt, wesentliche Teile der physikalischen Chemie dem Biologen so zugänglich zu machen, daß er mit ihnen für seine Zwecke gedanklich und praktisch operieren lernt. Denn nur so kann er einem, wenn nicht sogar dem Hauptproblem der kausalen Biologie näherkommen: die Verknüpfung der unsichtbaren Feinstruktur mit den sich an ihr abspielenden und durch die geregelten biochemischen Vorgängen vorzunehmen. Daß der Weg von der biochemischen Reaktion zum Verständnis der biologischen Funktion über eine physikalisch-chemisch zu verstehende Integration führt, wird dem Biochemiker bei der gedanklichen Bearbeitung seiner Befunde zunehmend bewußt. Die Darstellung trägt nicht nur den inzwischen besonders in der reinen Biochemie erzielten Erfolgen Rechnung, sie ist nicht nur im einzelnen exakter, breiter und in mancher Beziehung leichter zugänglich geworden. Sie hat sich vor allem bemüht, auch die modernen biochemischen Erkenntnisse unter funktionellen Gesichtspunkten so zusammenzufassen, daß geschlossene Darstellungen des Mechanismus biologischer Grundleistungen gewagt werden, welche dem augenblicklichen Wissensstand entsprechen. Das Buch ist nicht nur zur Auffrischung und Ausrichtung der physikalisch-chemischen Kenntnisse derjenigen Kreise gedacht, welche sich mit dem weiten Gebiet der Biochemie befassen. Es will vielmehr allen wissenschaftlich tätigen Biologen und Medizinern ein Helfer sein, soweit sich diese ernstlich um den wissenschaftlichen Ausbau ihrer Teildisziplinen bemühen.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Elektronen- und Ionenprozesse in Ionenkristallen

mit Berücksichtigung photochemischer Prozesse

Von Dr. OSTAP STASIW, Professor am Institut für Kristallphysik, Berlin-Adlershof. Mit 107 Abbildungen. VIII, 307 Seiten Gr.-8⁰. 1959. (22. Band der Reihe Struktur und Eigenschaften der Materie in Einzeldarstellungen. Herausgegeben von S. FLÜGGE.) Ganzleinen DM 66,—

INHALTSÜBERSICHT

Einleitung · Statistik von Störstellen in Ionenkristallen · Fehlordnungsenergie · Platzwechselvorgänge, Diffusion und Ionenleitung · Das Absorptionsspektrum des idealen Ionengitters · Das Absorptionsspektrum von Ionengittern mit stöchiometrischem Überschuß der Kationen- oder Anionenkomponente · Absorptionsspektren von Ionengittern mit Fremdzusätzen · Elektronische Störstellentheorie · Halbleiterprozesse · Lichtelektrische Leitung · Photochemische Prozesse in reinen Ionengittern · Photochemische Prozesse in Ionengittern mit Zusätzen · Photochemische Prozesse in mechanisch verformten Kristallen · Störstellen und Kernresonanz · Anwendung der adiabatischen Näherung auf Kristalle mit Störstellen · Anhang · Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Kompendium der Kristallkunde

Von Dr. W. F. DE JONG, Lektor an der Technischen Hochschule Delft (Holland). Unter Mitwirkung von Dr. J. BOUMAN, Delft

Deutsche, nach der ersten holländischen Auflage neu bearbeitete und erweiterte Ausgabe

Mit 227 Textabbildungen. VIII, 258 Seiten Gr.-8⁰. 1959.

Ganzleinen DM 44,—

INHALTSÜBERSICHT

Geometrische Kristallkunde. Kristallbeschreibung: Gesetz von STENSEN. Gesetz von HAÜY. Symmetrie. Kristallaggregate, Zwillinge, Viellinge · Kristallberechnung: Analytische Beziehungen. Reihen, Netze und Grundgitter. Winkelberechnung. Doppelverhältnisse. Transformationsformeln. Berechnungen mittels Projektionen · Kristallzeichnen: Allgemeines. Regiographische und Axonometrische Zeichenweise · Aufgaben der geometrischen Kristallkunde · Geometrische Kristallbestimmung.

Kristallstrukturkunde. Geschichtliches · Gittertheorie: Grundlegende Hypothese. Symmetrie. Unendliche Gruppen und ihre Symmetrieelemente. Raumgruppen. Gitter. Bravaisgitter. Hypothese von BRAVAIS. Ableitung und Beschreibung der Raumgruppen · Strukturbestimmung: Streuung von Röntgenstrahlen durch Materie. Arbeitsmethoden. Intensität der Reflexe (Streuung durch ein Gitter). FOURIER-Analyse. PATTERSON-Diagramm. Verlauf einer Strukturanalyse.

Kristallchemie. Die Bindungen: Ionenbindung. Atombindung. Metallbindung. Restbindung. H-Bindung. Resonanzbindung · Die Teilchen: Die Teilchen $(OH)^-$ und H_2O · Die Gitter: Koordinations-, Molekül-, Radikal-, Ketten-, Schicht- und Gerüstgitter · Gitterbeschreibung: Eine und zwei Atomarten. Mehr als zwei Atomarten. Organische Verbindungen · Einige Begriffe und Betrachtungen.

Kristallphysik. Phänomenologischer Teil: Die Größen. Homogene Deformation. Spannungszustand. Der Kristall als Dielektrikum. Magnetische Induktion. Wärmeleitung. Elektronenleitung. Pyroelektrizität. Piezoelektrizität. Elastizität. Erklärender Teil: Unvollkommenheiten des Gitters. Gitterenergie eines Idealkristalles. Oberfläche und Oberflächenenergie. Zugfestigkeit. Härte. Gleitung. Wärmeausdehnung. Diffusion. Ionenleitung. Elektronenleitung. Schwingungen von und in Gittern. Entstehung der Kristalle. Kristallwachstum. Lösen. Schmelzen und Verdampfen. Kristallzüchtung · Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · WIEN